

**EINFLUSS DER PYRIMIDINMONONUCLEOTIDE
URIDIN-5-MONOPHOSPHAT UND
CYTIDIN-5-MONOPHOSPHAT AUF DIE
DURCH ALLOPURINOL ERHÖHTE
OROTSÄUREAUSSCHIEDUNG DES MENSCHEN
UNTER DEN BEDINGUNGEN EINER FORMELDIÄT**

Alexander Brehm

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551923_0081

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. N. Zöllner

EINFLUSS DER PYRIMIDINMONONUCLEOTIDE URIDIN-5-MONOPHOSPHAT
UND CYTIDIN-5-MONOPHOSPHAT AUF DIE DURCH ALLOPURINOL
ERHÖHTE OROTSÄUREAUSSCHIEDUNG DES MENSCHEN UNTER DEN
BEDINGUNGEN EINER FORMELDIÄT

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von
Alexander B r e h m
aus München

München 1975

Berichterstatter: PD. Dr. G. Wolfram

Mitberichterstatter: Prof. Dr. N. Zöllner

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 2. 12. 1975



I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	<u>Seite</u>
A. EINLEITUNG	4
I. Zielsetzung	4
II. Biosynthese von Orotsäure und Pyrimidin-nucleotiden	5
III. Eigenschaften der Orotsäure im Organismus	7
IV. Vorkommen der Orotsäure	9
B. METHODIK	10
I. Versuchspersonen	10
II. Versuchsablauf	10
III. Versuchsdurchführung	12
1. Sammlung des Urins	12
2. Formeldiät	12
3. Verabreichung von Allopurinol	18
4. Verabreichung der Pyrimidinnucleotide 5'-UMP und 5'-CMP	18
IV. Bestimmungen der Orotsäure im Urin	19
V. Aufstellen einer Eichkurve	24
C. ERGEBNISSE	28
I. Urinvolumina	28
II. Orotsäureausscheidung im Urin	28
D. DISKUSSION	37
I. Vorbemerkungen	37
II. Erläuterungen zur Bestimmungsmethode der Orotsäure	42
III. Werte der vorliegenden Arbeit im Vergleich mit anderen Autoren und Angaben zum jeweiligen Biochemismus	43
IV. Standardabweichung und mittlerer Fehler sowie Paarvergleich und Vergleich unabhängiger Meßreihen	50
E. ZUSAMMENFASSUNG	54
F. LITERATURVERZEICHNIS	56

VERZEICHNIS DER TABELLEN

<u>Tabelle</u>		<u>Seite</u>
I	Vergleich des Orotsäuregehaltes von verschiedenen Milchen	10
II	Daten der Versuchspersonen	11
III	Grundumsatz, Arbeitsumsatz und verabreichte Kalorien	13
IV	Anteil von Kohlenhydraten, Fett und Eiweiß an der Diät	15
V	Körpergewicht der Versuchspersonen	17
VI	Einteilung der Versuchspersonen in Gruppe A und B nach Anzahl, Geschlecht, Alter und Gewicht	18
VII	Aufstellung einer Verdünnungsreihe	25
VIII	Einzelwerte der Eichkurve	27
IX	Urinvolumina	29
Xa, b	Orotsäureausscheidung im Urin	33/34
XI	Mittelwert, Standardabweichung und mittlerer Fehler der Gruppe A	38
XII	Mittelwert, Standardabweichung und mittlerer Fehler der Gruppe B	39
XIII	Vergleichswerte der Orotsäureausscheidung bei freigewählter Kost	43
XIV	Vergleichswerte der Orotsäureausscheidung bei Formel- und Basisdiät	44
XV	Vergleichswerte der Orotsäureausscheidung unter Allopurinol	45
XVI	Vergleichswerte der Orotsäureausscheidung unter Allopurinol und RNA, 5'-UMP, 5'-CMP	47
XVII	Vergleichswerte der Orotsäureausscheidung unter RNA, 5'-UMP, 5'-CMP	49

VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN

<u>Abbildung</u>		<u>Seite</u>
1	Strukturformeln der Orotsäure	5
2	Syntheseweg der Orotsäure	6
3	Syntheseweg der Pyrimidinderivate	7
4	Eichkurve	26
5	Urinvolumina, Mittelwerte der Gruppe A und Gruppe B	30
6	Orotsäureausscheidung im Urin der Gruppen A und B	32
7	Orotsäureausscheidung im Urin mit Einzel- und Mittelwerten der Gruppe A	35
8	Orotsäureausscheidung im Urin mit Einzel- und Mittelwerten der Gruppe B	36
9	Orotsäureausscheidung im Urin, Mittelwerte mit mittlerem Fehler der Gruppe A	40
10	Orotsäureausscheidung im Urin, Mittelwerte mit mittlerem Fehler der Gruppe B	41

T H E M A:

Einfluß der Pyrimidinnucleotide Uridin-5-Monophosphat (5'-UMP) und Cytidin-5-Monophosphat (5'-CMP) auf die durch Allopurinol erhöhte Orotsäureausscheidung unter den Bedingungen einer Formeldiät.

A. EINLEITUNG

I. Zielsetzung

Bekanntlich steigt durch die Gabe von Allopurinol die Orotsäureausscheidung im Urin an (FOX et al., 1970 (12)). Als Erklärung hierfür kann angeführt werden:

Allopurinol hemmt die Orotidinmonophosphat-Decarboxylase (OMP-D.) d. h. es entstehen keine Pyrimidinderivate, wodurch ein "Rückstau" an Orotsäure entsteht (s. Abb. 3, Seite 7).

Verabreicht man zusätzlich Ribonucleinsäure (RNA) unter diesen Bedingungen, so zeigt sich ein starker Abfall der Orotsäureausscheidung, wobei folgende Hypothesen diskutiert werden:

- a) RNA verhindert die OMP-Decarboxylasehemmung.
- b) Die Pyrimidinbiosynthese wird durch exogene Pyrimidinderivate infolge einer feedback-inhibition bereits auf einer Vorstufe zur Orotsäure gehemmt (ZÖLLNER, GRÖBNER, 1971 (43)).

Mit Hilfe der vorliegenden Arbeit sollte nun untersucht werden, ob und in welchem Ausmaß sich die durch Allopurinol erhöhte Orotsäureausscheidung nach Gabe von einzelnen Pyrimidinmononucleotiden, in diesem Fall 5'-UMP und 5'-CMP, welche beide in RNA enthalten sind, verändert.

Der Versuch wurde unter den Bedingungen einer Pyrimidin- und Purin-N-freien Formeldiät durchgeführt.

II. Biosynthese von Orotsäure und Pyrimidinnucleotiden

Die Orotsäure ist die wichtigste Ausgangssubstanz der Pyrimidinnucleotide (ARVIDSON et al., 1949 (2)). Ihrer chemischen Konstitution nach besteht sie aus einer 2,6-Dioxypyrimidin-4-carbonsäure und tritt in Enol- und Ketoform auf (WHEELER et al., 1907 (36)).

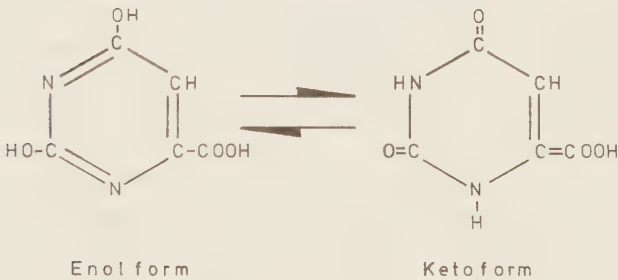


ABBILDUNG 1: Strukturformeln der Orotsäure

Der Syntheseweg der Orotsäure verläuft nach folgendem Schema (MAHLER, CORDES, 1969 (23); RUNDLES, BREWER, 1958 (27)):

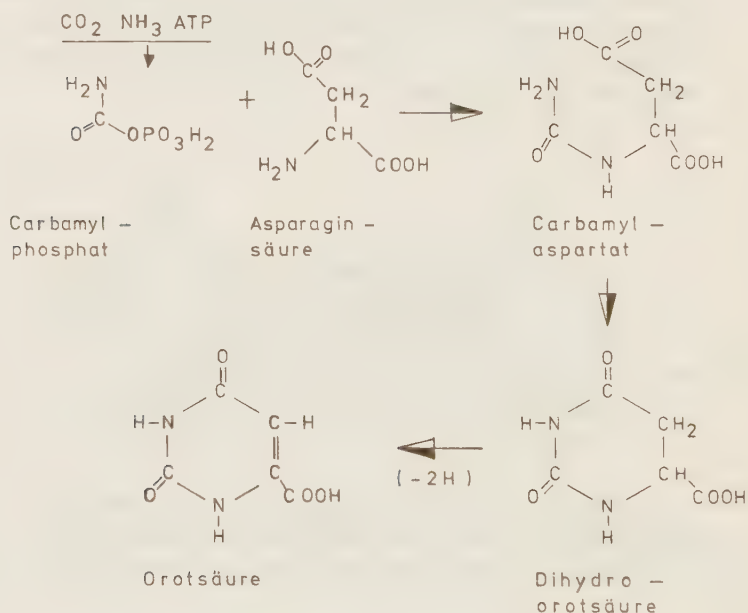


ABBILDUNG 2: Syntheseweg der Orotsäure

Die Orotsäure wird umgewandelt zu dem Pyrimidinderivat Uridin-5-Phosphat, von welchem die Synthese der Pyrimidinderivate Cytidin und Thymidin ausgeht (LIEBERMAN et al., 1955 (21); RUNDLES, BREWER, 1958 (27)):

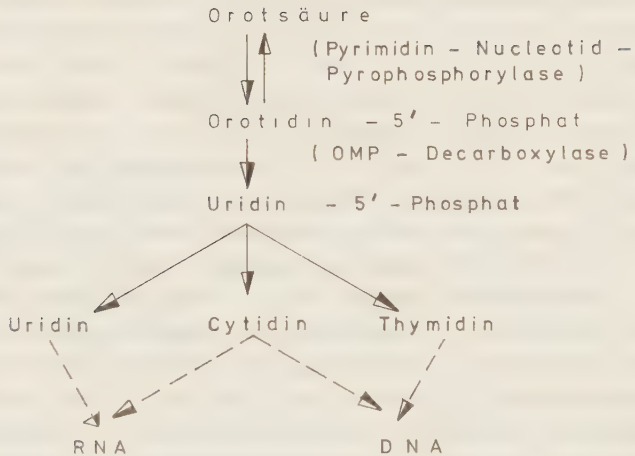


ABBILDUNG 3: Syntheseweg der Pyrimidinderivate

Aus ABBILDUNG 3 wird ersichtlich, daß die Orotsäure die Vorstufe aller Pyrimidinderivate und infolgedessen aller sich daraus ableitenden Nucleinsäuren darstellt (MAHLER, CORDES, 1969 (23)).

III. Eigenschaften der Orotsäure im Organismus

Wie im vorigen Abschnitt erläutert, ist die Orotsäure ein Praecursor für die RNA und DNA des Menschen, der Säugetiere und Mikroorganismen. Auf folgende andere Eigenschaften der Orotsäure im menschlichen Organismus sei kurz hingewiesen:

a) Eine wichtige Eigenschaft der Orotsäure besteht in einer Leberschutzwirkung (CRAIG, 1968 (8); SCHWIETZER, 1956 (29)).

So wird etwa bei Leberparenchymschäden Orotsäure verabreicht, da der Organismus infolge einer toxischen Schädigung der Leber, der jeweils eine Fermentschädigung zugrunde liegt, von außen zugeführte Pyrimidine, also Cytosin, Thymin und Uracil, nicht verwerten kann. Oral oder parenteral verabreichte Orotsäure jedoch vermag der Organismus in der Leber zu den erwähnten Pyrimidinen zu verarbeiten, da Orotsäure als einziger Pyrimidinkörper unmittelbar von der Leberzelle aufgenommen und als Cytosin, bzw. Uracil direkt in die Nucleinsäuren eingebaut wird. Man kann so der geschädigten Leber die energieverbrauchende Synthese der Pyrimidine erleichtern und durch "Arbeitsentlastung" möglicherweise eine Regeneration des geschädigten Leberparenchyms begünstigen (BEYER, 1960 (6); SCHWIETZER, 1963 (28); SCHWIETZER, 1957 (30); SZELENYI, 1971 (35)).

BEYER (6) berichtete 1960 von guten Erfolgen mit Orotsäure bei Hepatitis und Leberzirrhose.

Angeblich soll Orotsäure eine Stimulation der Aufnahme und des Einbaues von Aminosäuren in die Zellen und eine Erhöhung der an der Proteinsynthese der Leber und anderer Gewebe beteiligten Enzyme bewirken (SCHWIETZER, 1963 (28); SZELENYI et al., 1971 (34)).

b) Orotsäure induziert eine erhebliche Wachstumssteigerung (BEYER, 1960 (6); COMBS et al., 1954 (7); MAKINO et al., 1953 (24); SCHWIETZER, 1963 (28); SCHWIETZER, 1956 (29)), was damit in Zusammenhang stehen könnte, daß die Leber Eiweiß nur bei ausreichendem Vorrat an Nucleinsäuren synthetisiert, und die Zufuhr von Orotsäure folgenden Mechanismus auslöst:

Orotsäure --> Pyrimidine --> Nucleinsäuren --> vermehrte Eiweißsynthese (LAST, 1970 (20)).

c) Nach Beobachtungen von BEYER, 1960 (6) und LAST, 1970 (20) soll Orotsäure die Vermehrung der Milchsäurebazillen fördern, wodurch eine normale Darmflora gewährleistet, und die Eigenproduktion vitaminbildender Darmbakterien angeregt werden soll.

d) DELBARRE und AUSCHER, 1963 (9) führen die Orotsäure als Mittel gegen Gicht ein. Als Hypothese für die starke Verringerung der Urikämie diskutieren die beiden Autoren, daß die Überführung großer Mengen Orotsäure in Orotidin viel 5-Phosphoribosylpyrophosphat (5-PRPP) erfordert, das dadurch der Purinsynthese entzogen wird.

e) Nach längerer Zufuhr von Orotsäure tritt eine Steigerung der Fertilität auf (LAST, 1970 (20); SCHWIETZER, 1956 (29); SCHWIETZER, 1957 (30)).

f) Im Gegensatz zu a) berichtet MERTZ (vgl. Gicht, S. 248, Thieme-Verlag, Stuttgart (1971)) vom Auftreten einer Fettleber nach Orotsäureverabreichung.

IV. Vorkommen der Orotsäure

Orotsäure ist besonders in der Milch der Wiederkäuer vorhanden, wobei der Gehalt an Orotsäure in den ersten Tagen post partum 4 - 5 mal höher als normal ist. Bei Nichtwiederkäuern ist der Gehalt erheblich niedriger (BERG, 1970 (5); SCHWIETZER, 1963 (28)).

Folgende Konzentrationen werden in der Literatur angegeben:

	SOLMS et al. (1964) (32)	JOHKE (1963) (15)	KOBATA et al. (1961) (19)	HALLANGER (1953) (14)
Kuh- milch	55	60-120	62	91
Schafs- milch	-	-	-	324
Stuten- milch	-	-	-	17,4

TABELLE I: Vergleich des Orotsäuregehaltes von
verschiedenen Milchen.
Angaben in mg/1000 ml

B. METHODIK

I. Versuchspersonen

Für den Ernährungsversuch stellten sich sieben gesunde Personen (davon 4 männliche und 3 weibliche) im Alter von 19 bis 26 Jahren zur Verfügung. Alle Versuchspersonen (V.P.) waren Studenten, welche sich zum größten Teil neben Studium und Laborarbeit auch sportlich betätigten. Alter, Größe und Gewicht und Körperoberfläche sind aus Tabelle II zu ersehen.

II. Versuchsablauf

Der Versuch dauerte insgesamt 34 Tage. Vom 2. bis zum 32. Versuchstag einschließlich erhielten die Versuchspersonen (V.P.) eine isokalorische Formeldiät. Am 1. sowie 33. und 34. Tag nahmen die V.P. freigewählte Nahrung zu sich. Vom 9. bis einschließlich 27. Versuchstag wurde Allopurinol verabreicht. Vom 20. bis einschließlich 32. Versuchstag erhielten die in 2 Gruppen aufgeteilten V.P. zusätzlich 5'-UMP bzw. 5'-CMP. (s. Abb. 6).

Versuchspers. Lfd. Nr.	Gruppe	Name	♀ ♂	Alter (J)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	Körper- oberfläche (m ²)
1	A	G.v.P.	♀	25	175	70,0	1,85
2	A	A.B.	♂	26	185	81,8	2,05
3	A	H.S.	♂	22	177	80,0	1,97
4	B	U.M.	♀	25	171	56,0	1,65
5	B	A.S.	♀	19	181	70,7	1,90
6	B	P.K.	♂	22	184	73,0	1,95
7	B	P.B.	♂	21	186	83,5	2,09
Mittelwert 1-3	A			24,3	179	77,26	1,96
Mittelwert 4-7	B			21,8	180,4	70,80	1,90

TABELLE II: Laufende Nummer, Gruppenzugehörigkeit, Name, Geschlecht,
Alter, Größe, Gewicht, Körperoberfläche der sieben Ver-
suchspersonen.

A = 5'-UMP-Gruppe

B = 5'-CMP-Gruppe

III. Versuchsdurchführung

1. Sammlung des Urins

Der Versuch begann am 24.1.1973. Um 8.00 Uhr wurde von allen V.P. die Blase völlig entleert und dieser Urin verworfen. Von diesem Zeitpunkt an sammelten die V.P. über die gesamte Versuchsdauer hinweg den Urin in Perioden von 24 Stunden, nämlich von 8.00 Uhr bis 8.00 Uhr des folgenden Tages, in Plastikflaschen mit einem Volumen von 1000 ml. Dieser Urin wurde jeweils am Montag, Mittwoch und Freitag eingesammelt, wobei die V.P. im Austausch neue Plastikflaschen erhielten.

Danach wurde der 24 h-Urin jeder V.P. in einer ca. 4 l fassenden Plastikschißel mit einem elektrischen Handmixer ungefähr 5 Minuten durchgerührt, um eine gleichmäßige Verteilung der Orotsäure zu gewährleisten. Von diesem Urin wurden 10 ml in ein Reagenzglas abgefüllt und im Anschluß daran der Orotsäurebestimmung zugeführt.

2. Formeldiät

a) Berechnung der pro V.P. benötigten Kalorien

Aufgrund des Gewichtes (kg) und der Größe (cm) läßt sich mit Hilfe des Nomogrammes nach D. und E. DU BOIS (1916 (10)) die Körperoberfläche bestimmen (GEIGY, 1962 (13)).

Aus der Tabelle nach BOOTHBY (1957 (38)) läßt sich mittels der bekannten Körperoberfläche sowie jenach Alter und Geschlecht, der Grundumsatz pro V.P. und Tag in Kcal berechnen (s. Tab. III).

Der Arbeitumsatz (Kcal/V.P./die) ergibt sich aus der Multiplikation des Grundumsatzes mit dem Faktor 1,6 (ZÖLLNER, 1957 (38)), welcher am besten der Tätigkeit der V.P. entsprach.

Lfd. Nr.	Gruppe	Name	Grundumsatz (kcal/m ² /h)	Grundumsatz (kcal/VP/h)	(kcal/VP/24h)	Arbeitsumsatz (kcal/VP/24h)	verabreichte kcal/24h
1	A	G.v.P.	35,1	64,76	1554,22	2486,75	2487
2	A	A.B.	38,2	78,31	1879,44	3007,10	3007
3	A	H.S.	39,2	77,22	1853,28	2965,25	2965
4	B	U.M.	35,1	57,91	1389,96	2223,93	2224
5	B	A.S.	35,4	67,26	1614,24	2582,78	2583
6	B	P.K.	39,2	76,44	1834,56	2935,30	2935
7	B	P.B.	39,4	82,35	1976,30	3162,09	3162
$\bar{x}$ 1-3	A		37,50	73,43	1762,31 ± 104,45	2819,70	2820 ± 166,97
$\bar{x}$ 4-7	B		37,27	70,99	1703,77 ± 101,60	2726,03	2726 ± 205,39

TABELLE III: Grundumsatz pro m² Körperoberfläche und Stunde, pro Versuchsperson und Stunde, pro Versuchsperson und 24 h.

Arbeitsumsatz pro 24 h und tatsächlich verabreichte Kalorien pro 24 h.

A = 5'-UMP-Gruppe

B = 5'-CMP-Gruppe

Der Arbeitsumsatz wurde so für jede V.P. bestimmt und stellt die Zahl der benötigten Kcal pro V.P. und Tag dar (s. Tab. III).

b) Umrechnung der Kalorien auf die Nahrungsmittelmenge

Die Kalorienmenge pro V.P. wurde zu 55 % auf Kohlenhydrate (Maltodextrin), zu 15 % auf Eiweiß (Hyperprotidine^R) und zu 30 % auf Fett (Livioöl) aufgeteilt. Aufgrund des bekannten Kaloriengehaltes pro 100 g der einzelnen Substanzen ließen sich so die pro V.P. benötigten Nahrungsmittelmengen berechnen (s. Tab. IV).

α) Berechnung des Kaloriengehaltes von 100 g Maltodextrin:

Der Gehalt an Kohlenhydraten von Maltodextrin beträgt 97,5 %.

100 g Kohlenhydrate = 410 Kcal

100 g Maltodextrin = $\frac{410 \times 97,5}{100} = 399,75 \text{ Kcal}$

β) Berechnung des Kaloriengehaltes von 100 g Hyperprotidine:

Der Gehalt an Eiweiß von Hyperprotidine beträgt 92 %.

100 g Eiweiß = 410 Kcal

100 g Hyperprotidine = $\frac{410 \times 92}{100} = 377,2 \text{ Kcal}$

γ) Berechnung des Kaloriengehaltes von 100 g Livioöl:

Der Gehalt an Fett von Livioöl beträgt 100 %.

100 g Fett = 100 g Livioöl = 930 Kcal

c) Zubereitung der Formeldiät

Die Zubereitung der Formeldiät erfolgte jeweils am Sonntag und Dienstag für den Zeitraum von 2 Tagen; am Donnerstag, wegen des Wochenendes, für den Zeitraum von 3 Tagen.

Lfd. Nr.	55% Kohlenhydrate		30% Fett		15% Eiweiß		verabreichte kcal/24h
	g	kcal	g	kcal	g	kcal	
1	342,03	1367,30	90,19	745,8	98,86	372,90	2487
2	413,72	1653,85	97,00	902,1	119,57	451,05	3007
3	407,94	1630,75	95,64	889,5	117,90	444,75	2965
4	365,99	1223,20	71,74	667,2	88,44	333,60	2224
5	355,24	1420,10	83,29	774,6	102,67	387,30	2563
6	403,81	1614,25	94,67	880,5	116,71	440,25	2935
7	435,04	1739,10	102,00	948,6	125,74	474,30	3162
$\bar{x}$ 1-3	387,90 ± 23,02	1550,63 ± 92,02	90,94 ± 5,40	845,8 ± 50,19	112,11 ± 6,65	422,90 ± 14,57	2820 ± 166,97
$\bar{x}$ 4-7	375,02 ± 28,28	1499,16 ± 113,00	87,93 ± 6,63	817,7 ± 61,64	108,39 ± 8,17	408,86 ± 30,82	2726 ± 205,39

TABELLE IV: Aufteilung der entsprechenden Kalorien (kcal) auf 55% Kohlenhydrate,
30% Fett und 15% Eiweiß, angegeben in Gramm (g) und kcal.
Mittlerer Fehler der Mittelwerte $\bar{x}$ 1-3 und $\bar{x}$ 4-7.
Lfd. Nr. 1-3 = 5'-UMP-Gruppe
Lfd. Nr. 4-7 = 5'-CMP-Gruppe

Die pro V.P. benötigte Menge an Eiweiß, Kohlenhydraten und Fett wurde genau abgewogen und mit ca. 500 ml Wasser in einem Mixgerät zu einem zähflüssigen Brei vermengt. Dieser Brei wurde sodann in wachsbeschichtete Milchtüten abgefüllt und bis zur Abgabe an die V.P. am folgenden Tag kühlgestellt.

d) Verabreichung der Formeldiät

Die V.P. erhielten vom 2. bis einschließlich 32. Versuchstag die Formeldiät mit der Empfehlung, den Brei mit warmem oder kaltem Wasser, Tee oder Kaffee trinkfertig zu verdünnen. Dazu erhielten die V.P. pro Tag 5 g NaCl, 3 g KCl und eine Brausetablette Supradyn zur Deckung des Vitaminbedarfes.

e) Zusätzlich zur Formeldiät erlaubte Substanzen

Zusätzlich zur Formeldiät und als Geschmackskorrigentien waren folgende Substanzen erlaubt:

Süßstoff Na-Cyclamat (Assugrin[®]), Vanillinzucker, Zimt, Kaffeepulver, alle Arten von Tee, Kaffee, Mineralwasser ohne Geschmack und Kaugummi.

Außer Mineralwasser und Tee durften die V.P. die oben genannten Zutaten nur in kleinsten Mengen zu sich nehmen.

f) Nachfolgend noch einige Punkte, welche im Zusammenhang mit der Diät von Interesse sein dürften:

Montag, Mittwoch und Freitag wurde jeweils das Gewicht der V.P. kontrolliert, um etwa auftretende übermäßige Gewichtsveränderungen korrigieren zu können. Geringe Gewichtsveränderungen blieben außer Betracht. (s. Tab. V).

Die V.P. wurden ausdrücklich darauf hingewiesen, während des Versuches außer der Diät und den oben aufgeführten zusätzlich erlaubten Substanzen nichts zu sich zu nehmen; vorallem, ohne vorherige Rücksprache mit dem Versuchs-

Lfd. Nr.	Versuchstag																$\bar{x}$
	1.	2.	3.	6.	8.	10.	13.	15.	17.	20.	22.	24.	27.	29.	31.	34.	
1	70,0	69,4	68,2	68,2	68,1	68,0	68,0	68,0	68,1	68,1	68,1	68,0	68,0	68,0	68,0	68,3	68,28 $\pm$ 0,14
2	81,8	81,4	80,8	80,1	80,0	79,4	79,4	79,3	79,3	79,3	79,3	79,4	79,4	79,4	79,4	79,3	79,80 $\pm$ 0,21
3	80,0	79,8	78,7	78,6	78,4	78,0	79,1	80,0	79,8	78,9	78,9	79,3	79,7	79,3	78,8	78,8	79,13 $\pm$ 0,15
4	56,0	55,7	55,7	55,5	56,0	56,0	56,0	56,4	56,5	56,0	56,2	56,2	56,2	56,2	56,3	56,3	56,07 $\pm$ 0,07
5	70,7	70,2	69,3	69,4	69,0	69,3	70,5	70,4	70,0	70,3	70,3	71,4	70,5	70,4	70,6	70,8	70,19 $\pm$ 0,17
6	73,0	72,5	70,3	70,0	70,9	71,0	71,0	71,0	71,1	71,5	71,3	71,4	71,5	71,5	71,4	71,5	71,30 $\pm$ 0,18
7	83,5	82,7	82,5	81,3	82,1	81,2	81,1	81,0	80,0	80,2	80,8	81,1	80,6	80,5	80,3	80,5	81,21 $\pm$ 0,25
$\bar{x}$	77,26	76,83	75,90	75,63	75,50	75,13	75,50	75,76	75,73	75,43	75,43	75,56	75,66	75,57	75,40	75,46	75,74 $\pm$ 0,89
1-3	+3,68	+3,77	+3,90	+3,75	+3,73	+3,60	+3,76	+3,89	+3,83	+3,67	+3,67	+3,79	+3,84	+3,79	+3,71	+3,59	
$\bar{x}$	70,80	70,27	69,45	69,05	69,50	69,38	69,65	69,70	69,40	69,50	69,65	70,02	69,70	69,65	69,65	69,77	69,69 $\pm$ 0,16
4-7	+5,67	+5,57	+5,48	+5,28	+5,35	+5,18	+5,17	+5,06	+4,85	+5,02	+5,07	+5,15	+5,04	+5,02	+4,97	+5,01	

TABELLE V:

Körpergewicht der Versuchspersonen in kg während der Versuchsdauer.

Mittlerer Fehler der Mittelwerte $\bar{x}_{1-3}$ und $\bar{x}_{4-7}$ sowie $\bar{x}_{1-34}$. Tag.

Lfd. Nr. 1-3 = 5'-UMP-Gruppe

Lfd. Nr. 4-7 = 5'-CMP-Gruppe

leiter, keinerlei Pharmaka (Analgetika, Schlafmittel u.s.w.), da hierdurch die Ergebnisse der Versuchsserie beeinflußt werden könnten.

Gegen eine zu Beginn des Versuches bei einigen V.P. aufgetretene Obstipation wurde Obstinol-mild verabreicht.

3. Verabreichung von Allopurinol

Vom 9. bis einschließlich 27. Versuchstag erhielten alle V.P. 4 Tabletten (= 400 mg) Allopurinol pro Tag, welche ebenfalls montags, mittwochs und freitags ausgehändigt wurden.

Die Dosierung erfolgte nach folgender Vorschrift:
morgens (nach 8.00 Uhr) 2 Tabletten, mittags und abends je 1 Tablette.

4. Verabreichung der Pyrimidinnucleotide

Uridin-5-monophosphat (5'-UMP) und

Cytidin-5-monophosphat (5'-CMP)

Vom 20. Versuchstag ab wurden die 7 V.P. in 2 Gruppen unterteilt; dabei wurde auf gleichmäßige Verteilung von Alter, Geschlecht und Gewicht geachtet:

Gruppe	Anzahl der V.P.	♂	♀	Alter (J)	Gewicht (kg)
A	3	2	1	22-26	70,0-80,0
B	4	2	2	19-25	50,0-83,5

TABELLE VI: Einteilung der V.P. in Gruppe A und B
nach Anzahl, Geschlecht, Alter und Gewicht.

Vom 20. bis einschließlich 27. Versuchstag erhielt jede V.P. der Gruppe A 3 g 5'-UMP/die, jede V.P. der Gruppe B 3 g 5'-CMP/die.

UMP und CMP wurden von der Firma Serva, Feinbiochemica GmbH, Heidelberg, als Pulver in Glasflaschen geliefert, die zum Blei- und Schwermetallgehalt folgende Angaben machte:

5'-UMP: Pb- und Schwermetallgehalt < 1 ppm

5'-CMP: Pb- und Schwermetallgehalt $\leq 1,2$ ppm.

Dieses Pulver wurde von uns genau abgewogen und in Gelatine-kapseln abgefüllt. Diese Kapseln wurden jeweils montags, mittwochs und freitags an die V.P. ausgehändigt. Um ein Aufspringen der Kapseln zu verhindern, wurden sie in kleine, mit Watte ausgestopfte Schachteln verpackt.

Eine Kapsel faßte genau 1 g 5'-UMP, jedoch nur $1/2$ g 5'-CMP infolge des geringeren spezifischen Gewichtes dieser Substanz. Daher erhielten die V.P. der Gruppe A pro Tag 3, die der Gruppe B pro Tag 6 Kapseln.

Die Dosierung erfolgte nach folgender Vorschrift:

Gruppe A: morgens (nach 8.00 Uhr), mittags und abends je
1 Kapsel,

Gruppe B: analog jeweils 2 Kapseln.

IV. Bestimmungen der Orotsäure im Urin

1. Allgemeines

Die Bestimmungen der Orotsäure wurden nach der Methode von STAJNER (1968 (33)) in Abänderung der Methode nach ADACHI (1963 (1)) vorgenommen.

Diese Methode ist zur Orotsäurebestimmung sowohl bei gesunden Patienten als auch bei Patienten mit erhöhten Werten von Bilirubin, Gallen-, Fett- und Harnsäure geeignet (STAJNER, 1968 (33)).

Bei der gesamten Versuchsreihe wurden Doppelbestimmungen durchgeführt.

2. Benötigte Reagentien

- a) aqua bidestillata
- b) Uranylacetat
- c) Puffer: 0,4 M Na-Citrat + HCl (ph 2,5)
- d) Gesättigtes Bromwasser
- e) 5 %-ige L-Ascorbinsäure in aqua destillata
- f) p-Dimethylaminobenzaldehyd, 2,5 % in n-Propanol gelöst
- g) n-Butylacetat

3. Notwendige Vorbereitungen

Infolge schlechter Löslichkeit ist es erforderlich, am Tage vor der Bestimmung eine 2 mg %-ige Orotsäure-Standardlösung, sowie eine 1,65 g %-ige Uranylacetatlösung herzustellen.

Die Herstellung der Standardlösung erfolgt durch Auflösen von 2 mg pulverförmiger Orotsäure in 100 ml aqua bidestillata, die der Uranylacetatlösung durch Auflösen von 1,65 g Uranylacetat in 100 ml aqua bidestillata.

4. Bestimmungsmethode

Auffüllen von 3 Reagenzgläsern (je eines für "Leerwert", "Standard" und "Probe") mit je 3 ml aqua bidest.

Zentrifugieren der 24 h-Urinprobe bei 4000 U/min 5 Minuten lang bei + 4 ° Celsius.

Nachdem sich hierbei alle Sedimente am Boden des Zentrifugenglases abgesetzt haben, wird der Urin in ein neues Reagenzglas dekantiert.

Von diesem Urin wird nun 1 ml in das mit 3 ml aqua bidest. gefüllte Reagenzglas für die "Probe" pipettiert, der Rest verworfen.

Der Urin muß verdünnt werden, da sonst zu hohe Konzentrationen vorhanden wären.

In das Reagenzglas für den Standardwert wird 1 ml von der Standardlösung, in das Reagenzglas für den Leerwert 1 ml aqua bidest. gefüllt.

Somit befinden sich in jedem Reagenzglas 4 ml.

Gut schütteln!

Alle nachfolgend aufgeführten Reagentien werden in gleicher Menge in "Leerwert", "Standard" und "Probe" gefüllt.

Zugabe von 1 ml Uranylacetat.

Uranylacetat fällt das Protein, wodurch in dem "Probenglas" eine milchige Trübung auftritt. Der wesentliche Vorteil einer Deproteination mit Uranylacetat besteht darin, daß

- a) der pH-Wert der Reaktionsmischung nicht verändert wird,
- b) Uranylacetat den weiteren Verlauf der Reaktion nicht beeinflußt (STAJNER, 1968 (33)).

Gut schütteln!

Zentrifugieren bei 4000 U/min für 10 Minuten.

Das gefällte Protein setzt sich am Reagenzglasboden ab, der Überstand wird in ein neues Reagenzglas dekantiert.

Von dieser dekantierten Urinprobe (sowie von "Leerwert" und "Standard") werden je 2,5 ml in neue Reagenzgläser pipettiert. Der Rest wird verworfen.

Zugabe von 2 ml 0,4 M Na-Citrat + HCl-Puffer (pH 2,5).

Gut schütteln!

Zupipettieren von 0,5 ml gesättigtem Bromwasser unter einem Abzug.

Hierbei wird die Orotsäure in 5,5-Dibrombarbitursäure verwandelt (STAJNER, 1968 (33)) und es tritt eine bräunliche Verfärbung auf.

Gut schütteln!

Zugabe von 1 ml 5 %-iger L-Ascorbinsäure in aqua dest.

Die 5,5-Dibrombarbitursäure wird bei diesem Reaktionsschritt zu Barbitursäure reduziert (STAJNER, 1968 (33)) und die Braunfärbung verschwindet.

Gut schütteln!

Einbringen der Reagenzgläser in ein Wasserbad von 40 ° für 5 Minuten.

Zugabe von 2 ml p-Dimethylaminobenzaldehyd, 2,5 % in n-Propanol gelöst.

Die Barbitursäure verbindet sich, d.h. sie substituiert in 5-Stellung mit dem p-Dimethylaminobenzaldehyd zu 5-(p-Dimethylaminobenzyliden-)Barbitursäure.

Gut schütteln!

Dabei vermischen sich die vorher aufgetretenen beiden Phasen.

Einbringen in ein Wasserbad von 40 ° für 10 Minuten.

Es entwickelt sich ein ganz hellgelber Farbton.

Zugabe von 4 ml n-Butylacetat.

Gut schütteln!

Die Benzyliden-Barbitursäure wird mit Hilfe des n-Butylacetats ausgeschüttelt, wobei sich 2 Phasen bilden.

Zentrifugieren bei 4000 U/min für 10 Minuten.

Aus der oberen Phase werden nun vorsichtig (um ein Vermischen beider Phasen zu verhindern) ca. 3 ml in eine Glasküvette 103 abpipettiert.

Es erfolgt nun die photometrische Bestimmung an einem Zeiss-Photometer bei 458 nm, wobei die "Probe" gegen den "Leerwert" abgelesen wird.

Anmerkung:

Die Linearität zwischen Extinktion und Orotsäurekonzentration ist nur bis zu einer Orotsäurekonzentration von $20 \mu\text{g/ml}$ gewährleistet (STAJNER, 1968 (33)), dabei liegen die genauesten Meßergebnisse in einem Konzentrationsintervall von 0,5 bis $10 \mu\text{g/ml}$. Bei Auftreten von höheren Werten bieten sich nun 2 Korrekturmöglichkeiten an:

- a) Bereits zu Versuchsbeginn verdünnt man die Urinprobe in einem bestimmten Verhältnis mit aqua bidest.
- b) Man verdünnt zum Schluß der Versuchsreihe in einem bestimmten Verhältnis mit n-Butylacetat.

Die Verdünnung ist bei der Berechnung der Orotsäurekonzentration zu berücksichtigen.

5. Berechnung

Die Berechnung der Orotsäurekonzentration erfolgt nach folgender Formel:

$$\frac{E \text{ der Probe}}{E \text{ des Standards}} \times 20 = \mu\text{g Orotsäure in 1 ml Urin}$$

Durch Multiplizieren dieses Wertes mit dem Urinvolumen pro Tag ergibt sich die Tagesausscheidung an Orotsäure in μg .

$$\begin{aligned} \mu\text{g Orotsäure / ml Urin} \times \text{Urinvolumen / die} &= \\ &= \mu\text{g Orotsäure / die} \\ \mu\text{g Orotsäure / die} : 1000 &= \text{mg Orotsäure / die} \end{aligned}$$

6. Zum Versuch benötigte Geräte und Hilfsmittel

8 Reagenzglasständer

Zentrifugengläser

Parafilm zum Schütteln der Reagenzgläser

2 Meßkolben à 100 ml

Auslaufpipetten: 0,5 ml, 1 ml, 2 ml, 2,5 ml, 3 ml, 4 ml

Glasküvetten 103

70 Plastikflaschen à 1000 ml

2 Meßbecher à 2 l zur Mengenbestimmung des Urins

1 Plastikschißsel à 4 l zum Vermischen des Urins

Krups-Handmixer

Kühlschrank

Zentrifuge (Heraeus-Christ GmbH, Osterode/Harz,

Fabrikat UJ II KS, 1971)

Analysenwaage (A. Sauter KH, Obingen, Württemberg)

Waage (E. Mettler, Zürich)

Zeiss-Photometer

Wasserbad mit eingebautem einstellbarem Thermometer

Abzug - da Bromwasser wegen des intensiven Geruches unter
einem Abzug abpipetiert werden muß.

V. Aufstellen einer Eichkurve

Um die Genauigkeit der Orotsäurebestimmungsmethode sowie unserer Messungen nachzuprüfen, erfolgte die Aufstellung einer Eichkurve.

Als erstes war dazu eine Verdünnungsreihe notwendig (s. Tab. VII).

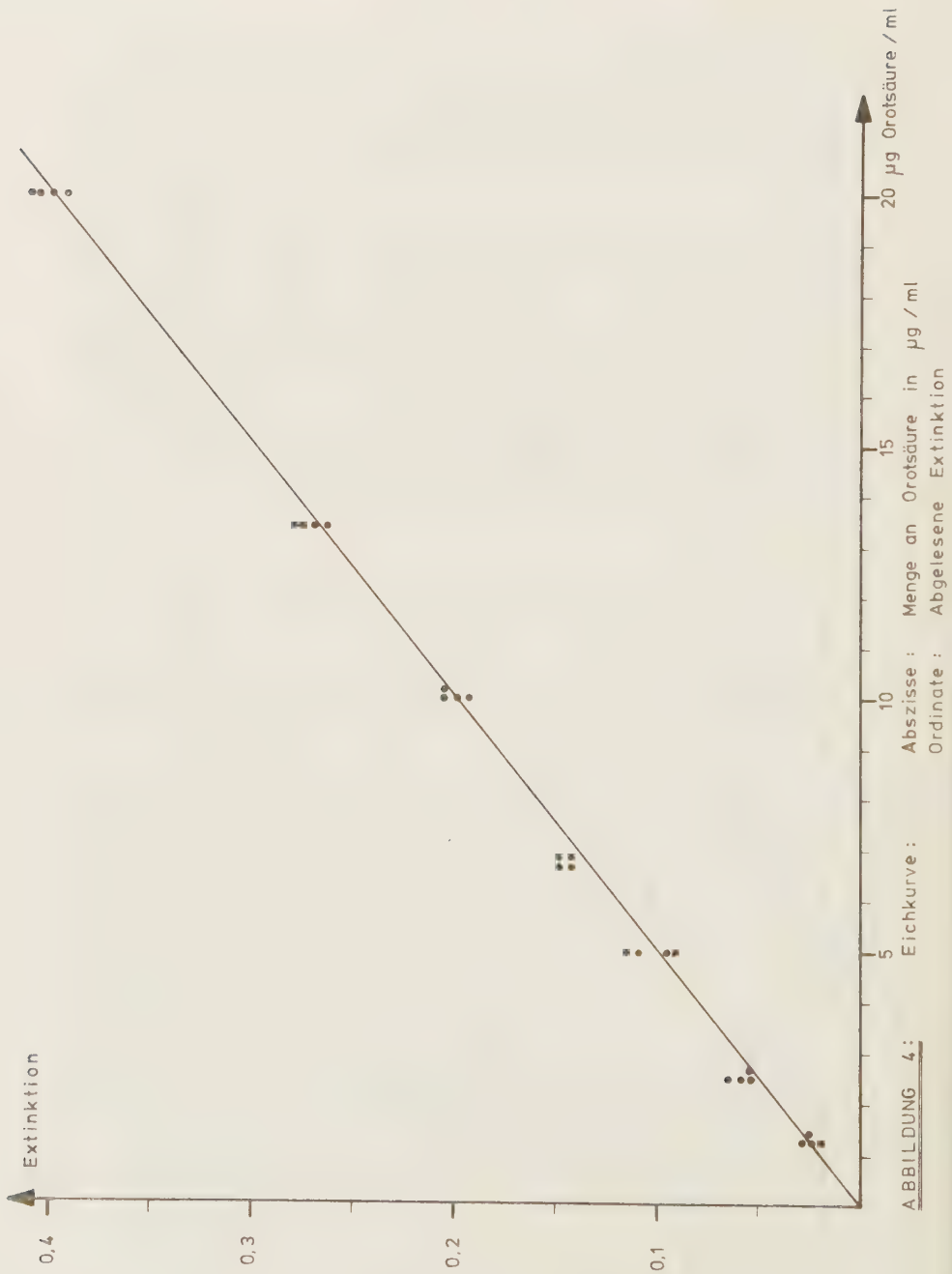
Als Stammlösung wurde eine 2 mg %-ige Orotsäurestandardlösung ($\hat{=}$ 20 $\mu\text{g/ml}$) verwendet.

Diese Stammlösung wurde auf folgende Werte verdünnt:

20 $\mu\text{g/ml}$, 13,4 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 6,7 $\mu\text{g/ml}$, 5 $\mu\text{g/ml}$, 2,5 $\mu\text{g/ml}$
und 1,25 $\mu\text{g/ml}$ (s. Tab. VII).

Aus diesen Werten ergab sich durch 4-fach-Bestimmungen die Eichkurve (s. Tab. VIII, s. Abb. 4).

Es zeigt sich, daß die Eichkurve bis zu einer Konzentration von 20 $\mu\text{g/ml}$ Orotsäure linear verläuft.



Orotsäure (ug/ml)	abgelesene Extinktion			
	1. Wert	2. Wert	3. Wert	4. Wert
20	0,410	0,409	0,400	0,392
13,4 (2/3)	0,280	0,278	0,270	0,265
10	0,205	0,204	0,200	0,193
6,7 (1/3)	0,150	0,149	0,145	0,143
5	0,115	0,110	0,096	0,094
2,5	0,064	0,057	0,055	0,054
1,25	0,028	0,026	0,025	0,022

TABELLE VIII: Aufstellung der Einzelwerte für die
Eichkurve

C. ERGEBNISSE

I. Urinvolumina

Das mittlere tägliche Urinvolumen betrug 1125 ml, wobei der niedrigste gemessene Durchschnittswert bei 663 ml, der höchste bei 1434 ml lag (Einzelwerte: 460 - 3600 ml) (s. Tab. IX, s. Abb. 5).

Die V.P. wurden wie bereits erwähnt, angehalten viel zu trinken, da bei größeren Ausscheidungsmengen der prozentuale Fehler durch unvollständige Entleerung der Blase gering gehalten werden kann.

Die zugeführten Flüssigkeitsmengen wurden nicht registriert, weshalb auch keine Bilanzierung von Flüssigkeitszufuhr und -ausscheidung durchgeführt wurde.

II. Orotsäureausscheidung im Urin

1. Ergebnisse unter freigewählter Kost

Die unter freigewählter Kost im Urin ausgeschiedenen Orotsäuremengen liegen bei $4,0 \pm 0,55$ mg/24 h für die Gruppe A sowie $3,8 \pm 0,63$ mg/24 h für die Gruppe B.

2. Ergebnisse unter Formeldiät

Bei ausschließlicher Zufuhr von Formeldiät ließ sich anfangs ein ganz leichter Anstieg der Orotsäureausscheidung auf Werte von $5,13 \pm 0,71$ mg/24 h für Gruppe A und $5,51 \pm 0,81$ mg/24 h für Gruppe B feststellen, die sich jedoch bis zum 8. Versuchstag wieder auf Normalwerte von $4,22 \pm 0,65$ mg/24 h (Gruppe A) und $3,75 \pm 0,30$ mg/24 h (Gruppe B) einpendelten.

Lfd. Nr.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	Versuchstag
1	1800	1000	1080	1390	1230	890	780	750	840	700	1170	510	740	650	1390	700	690	
2	1100	1130	1520	1040	590	1200	650	890	1190	1060	1400	1475	780	1060	1630	880	1400	
3	1000	1070	1600	1540	1130	820	700	800	800	1750	1450	1500	1190	1650	1260	1000	1500	
4	800	1130	1225	1300	1020	700	560	520	770	550	800	650	780	1210	990	790	1410	Urin-
5	600	900	1380	1100	620	590	540	460	470	500	500	480	600	810	1150	580	600	volumina
6	1150	1330	920	600	1030	900	630	700	690	1000	810	825	620	460	690	500	1350	(ml/24h)
7	980	1160	1200	1040	600	1500	780	720	1780	1910	2440	2140	1110	810	1600	1320	1400	
$\bar{x}$ 1-3	1300	1267	1400	1313	883	903	710	813	843	1170	1340	1162	903	1120	1427	860	1197	
$\bar{x}$ 4-7	883	1130	1181	1060	818	923	628	600	928	990	1138	1024	778	823	1108	798	1190	

Lfd. Nr.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	31.	32.	33.	34.	Versuchstag
1	1000	1350	520	1450	1095	1280	640	830	640	1000	1270	1310	1740	1950	870	550	910	
2	1195	1490	1350	1410	1540	1600	1795	1440	1500	1260	1710	1290	1220	1700	1180	800	1000	
3	2600	2550	1400	1100	1920	1720	2115	2070	3050	2190	1310	1170	1180	1040	925	850	940	
4	1190	1330	1580	1210	1820	930	1235	820	1050	1560	1490	1240	1230	1590	1010	1000	925	Urin-
5	605	1400	540	490	1150	1680	1550	1000	1140	770	930	825	1090	890	730	1590	840	volumina
6	650	640	800	1300	710	780	660	1000	780	620	680	900	1150	910	970	920	780	(ml/24h)
7	1530	720	1300	1300	830	2000	1000	1275	1820	1640	1010	1200	1750	1780	1000	1025	1350	
$\bar{x}$ 1-3	1598	1797	1080	1320	1518	1550	1517	1453	1730	1483	1430	1257	1380	1563	992	733	950	
$\bar{x}$ 4-7	994	1038	1630	1098	1128	1348	1116	1024	1198	1148	1028	1041	1305	1293	928	1134	974	

TABELLE IX: Urinvolumina (ml/24h), Einzelwerte (1-7) und Mittelwerte der 5 I-UMP-Gruppe ($\bar{x}$ 1-3) und der 5 I-DMP-Gruppe ($\bar{x}$ 4-7).

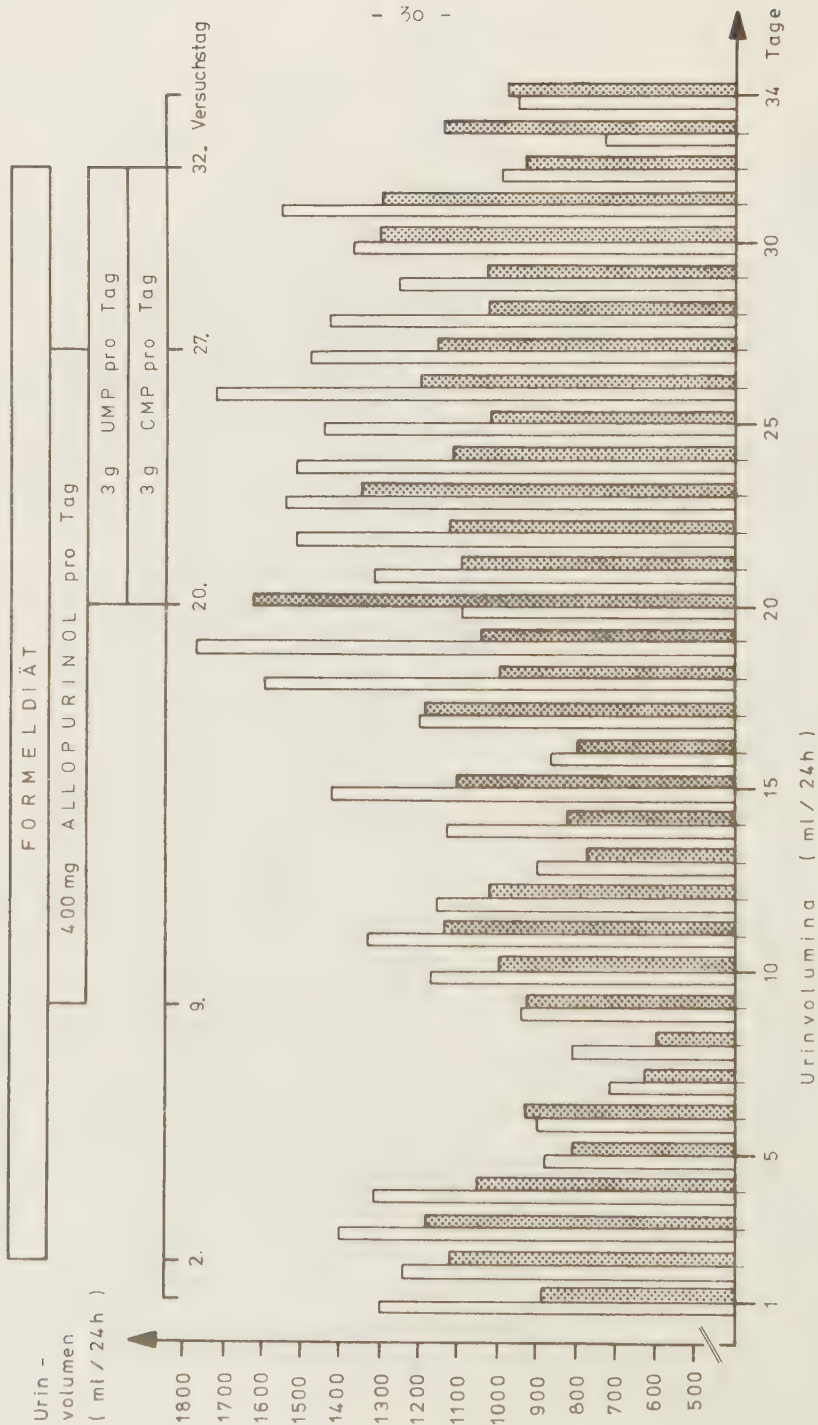


ABBILDUNG 5:

3. Ergebnisse unter Formeldiät + Allopurinol

Nach zusätzlicher Zufuhr von Allopurinol zeichnete sich ein rapider Anstieg der Orotsäureausscheidung über Werte von $9,53 \pm 1,78$ mg/die (Gr. A) und $10,31 \pm 0,81$ mg/die (Gr. B) am 1. Tag und $21,13 \pm 2,47$ mg/die (Gr. A) und $23,32 \pm 2,70$ mg/die (Gr. B) am 2. Tag auf Werte von $30,24 \pm 8,35$ mg/die (Gr. A) und $28,39 \pm 0,22$ mg/die (Gr. B) am 3. Tag ab. Daraufhin stellte sich offenbar ein steady-state über 3 Tage ein. Am 7. Tag kam es wieder zu einem deutlichen Anstieg auf Ausscheidungswerte von $36,59 \pm 8,02$ mg/die (Gr. A) und $37,01 \pm 1,06$ mg/die (Gr. B). Vom 8. bis zum 11. Tag, dem Ende dieser Periode, trat ein gewisser Unterschied bei den Ausscheidungswerten beider Gruppen auf mit Maximalwerten von $45,7 \pm 4,27$ mg/die (Gr. A) und $37,15 \pm 5,54$ mg/die (Gr. B), was einer Steigerung von 1131 % bzw. 977 % des Ausgangswertes entspricht. Am 11. Tag dieser Periode ergaben sich Schlußwerte von $39,05 \pm 8,05$ mg/die (Gr. A) und $32,68 \pm 2,02$ mg/die (Gr. B).

4. Ergebnisse unter Formeldiät + Allopurinol + 5'-UMP (Gruppe A), bzw. 5'-CMP (Gruppe B)

Nach zusätzlicher Gabe von 5'-UMP bzw. 5'-CMP zeigte sich bereits am 1. Tag eine deutlich verminderte Ausscheidung der Orotsäure auf Werte von $18,69 \pm 4,93$ mg/die (Gr. A) und $21,59 \pm 4,93$ mg/die (Gr. B). Es stellte sich sofort ein steady-state ein, mit Maximalwerten von $20,83 \pm 4,04$ mg/die (Gr. A) und $21,53 \pm 4,85$ (Gr. B) und Minimalwerten von $16,0 \pm 2,61$ mg/die (Gr. A) und $15,43 \pm 3,44$ mg/die (Gr. B), was einem Abfall auf 35 % (Gr. A) bzw. 41 % (Gr. B) gegenüber den Ausscheidungsmaxima nach Zufuhr von Formeldiät und Allopurinol entspricht.

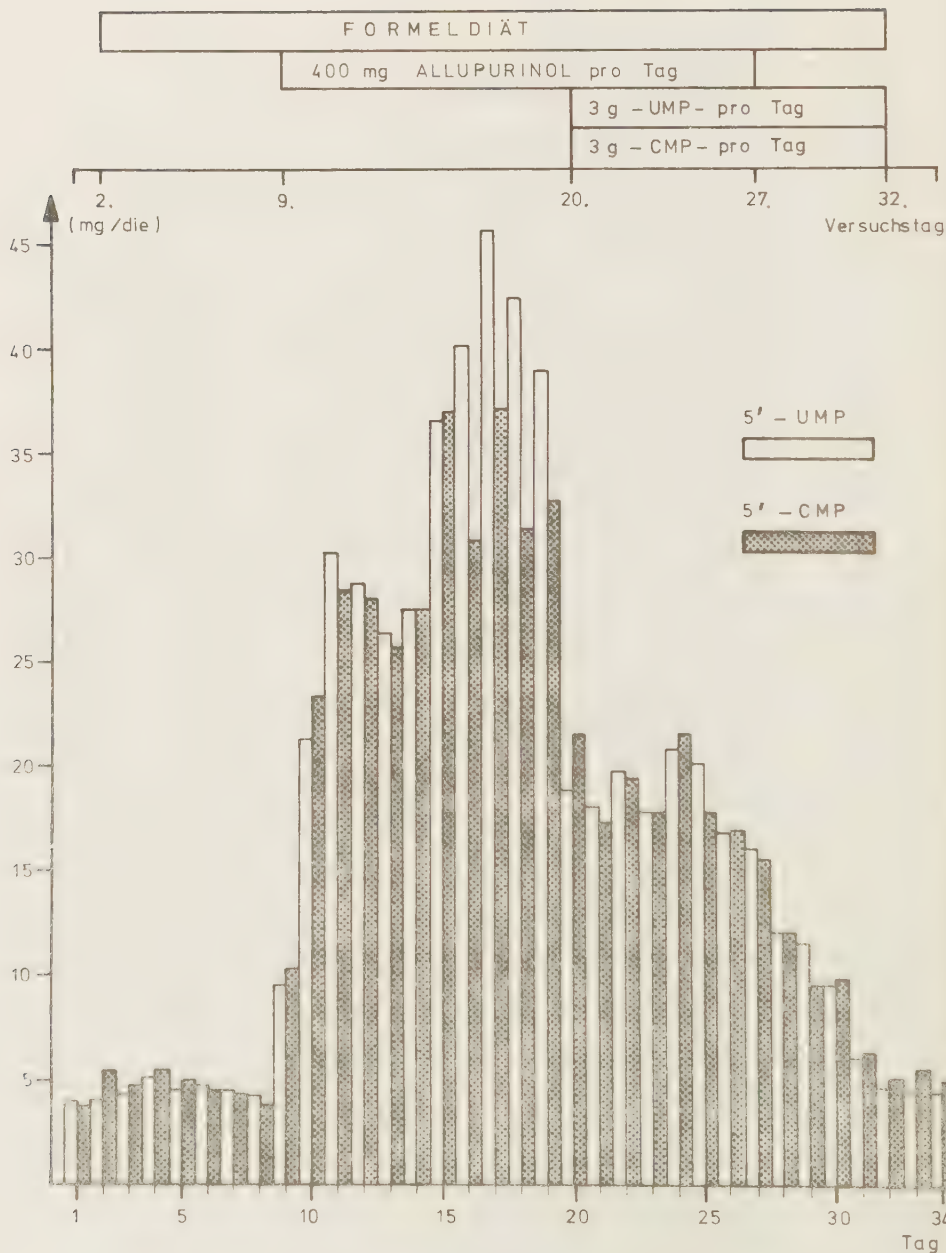


ABBILDUNG 6:

Oxalsäureausscheidung im Urin (mg/die)

Unterteilung in Gruppe A

(orale Belastung mit 5' - UMP)

und Gruppe B

(orale Belastung mit 5' - CMP)

FORMELDIÄT

400 mg ALLOPUKINOL pro Tag

Lfd. Nr.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	Tag	Orotsäureausscheidung im Urin (mg/die)	
1	2,97	3,20	4,05	3,20	4,09	3,52	3,67	3,08	12,85	16,42	28,96	17,75	14,58	25,38	45,66	40,43	48,65			
2	4,79	5,31	4,26	5,36	4,12	6,00	3,61	5,34	8,98	24,75	45,29	52,95	37,25	34,24	43,52	44,48	51,17			
3	4,35	3,85	4,40	6,24	5,23	4,76	6,20	4,24	6,76	22,23	16,46	15,45	27,19	23,18	20,60	35,80	37,28			
4	2,68	2,99	2,70	5,27	3,42	3,40	4,32	2,91	11,51	16,31	28,68	25,38	31,55	23,90	35,44	27,53	29,89			
5	4,05	6,48	4,07	7,70	3,97	4,04	3,54	4,14	8,34	22,40	27,75	27,84	21,90	35,72	34,90	33,06	26,13			
6	5,46	6,68	5,89	3,80	8,39	5,76	5,03	4,20	9,63	29,05	28,71	24,79	17,89	23,58	38,81	31,63	42,53			
7	2,99	4,87	5,28	5,25	4,23	4,73	3,47	3,74	11,75	25,50	28,43	34,24	31,36	26,81	38,88	31,15	50,05			
$\bar{x}$ 1-3	4,04	4,12	4,24	5,13	4,48	4,76	4,49	4,22	9,53	21,13	30,24	28,72	26,34	27,60	36,59	40,24	45,70			
$\bar{x}$ 4-7	3,80	5,26	4,49	5,51	5,00	4,48	4,29	3,75	10,31	23,32	28,39	28,06	25,68	27,50	37,01	30,84	37,15			

TABELLE Xa: Orotsäureausscheidung im Urin (mg/die) vom 1.-17. Versuchstag.
Einzelwerte (1-7) und Mittelwerte der 5'-UMP-Gruppe ($\bar{x}$ 1-3)
und der 5'-CMP-Gruppe ($\bar{x}$ 4-7).

FORMELDIÄT	
400 mg ALLOPURINOL pro Tag	
3 g UMP pro Tag	
3 g CMP pro Tag	

Lfd. Nr.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	31.	32.	33.	34.	Tag
	Oxotsäureausscheidung im Urin (mg/die)																	
1	47,10	35,55	11,26	14,86	17,14	16,45	13,38	17,22	9,70	12,50	10,67	9,17	9,92	5,66	3,87	2,92	3,00	
2	40,03	54,91	28,01	21,43	25,49	21,92	27,10	21,02	18,23	21,23	13,85	11,67	10,19	7,91	5,78	6,28	6,05	
3	40,30	28,69	16,80	17,71	16,42	15,13	22,00	22,25	21,96	14,45	11,66	13,80	8,32	4,32	4,21	4,17	4,00	
4	29,81	37,04	18,49	9,80	13,92	11,63	10,68	9,31	12,50	8,11	5,29	6,45	6,21	4,37	4,24	4,60	4,07	
5	20,18	28,00	10,18	12,21	15,41	14,36	19,30	14,00	13,11	12,55	9,02	6,85	6,43	4,85	4,64	4,69	3,82	
6	22,17	30,85	24,04	16,56	16,90	14,94	22,00	26,05	20,32	16,77	14,96	9,00	11,33	6,87	6,79	6,44	5,53	
7	53,40	34,83	33,66	30,23	31,33	30,40	34,15	21,74	20,75	24,27	18,84	15,42	14,88	8,90	4,45	6,00	6,14	
$\bar{x}$ 1-3	42,48	39,05	18,69	18,00	19,68	17,83	20,83	20,16	16,63	16,06	12,06	11,55	9,48	5,96	4,62	4,46	4,35	
$\bar{x}$ 4-7	31,39	32,68	21,59	17,21	19,39	17,83	21,53	17,78	16,67	15,43	12,03	9,43	9,71	6,25	5,03	5,43	4,89	

TABELLE Xb: Oxotsäureausscheidung im Urin (mg/die) vom 18.-34. Versuchstag.
Einzelwerte (1-7) und Mittelwerte der 5'-UMP-Gruppe ($\bar{x}$ 1-3)
und der 5'-CMP-Gruppe ($\bar{x}$ 4-7).

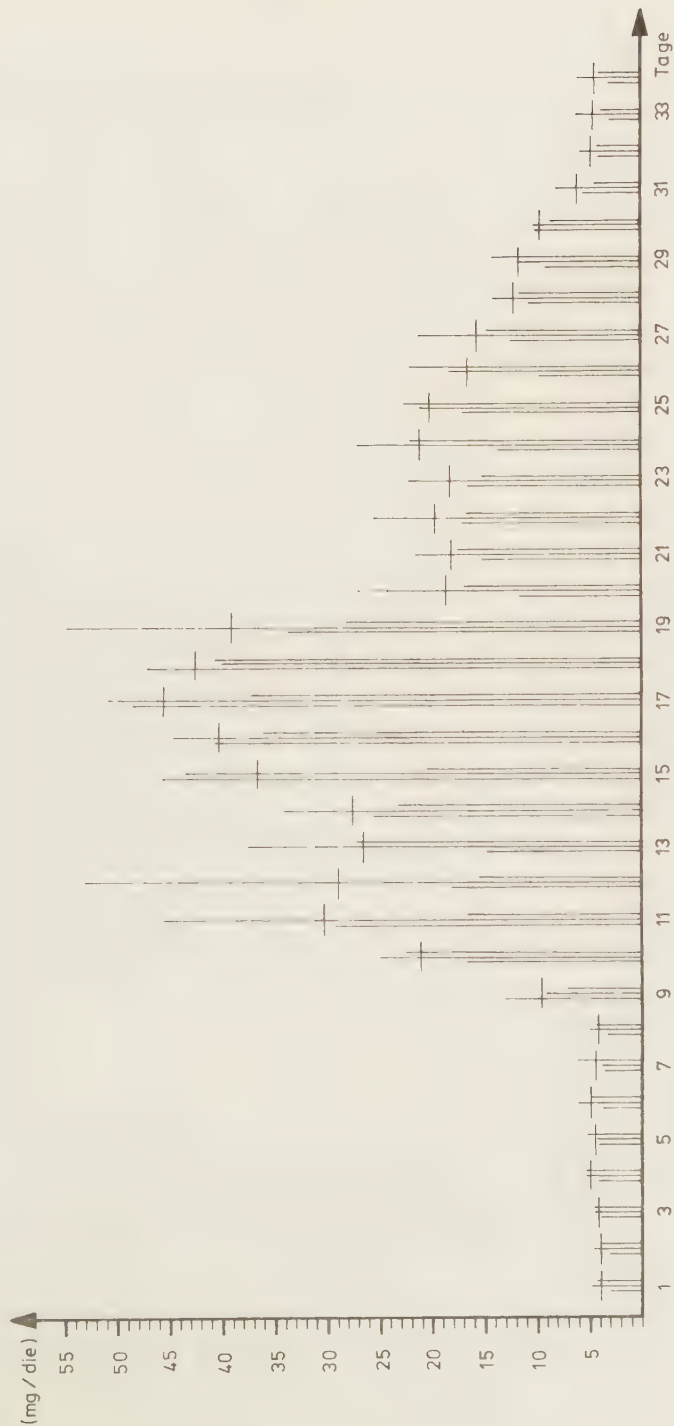
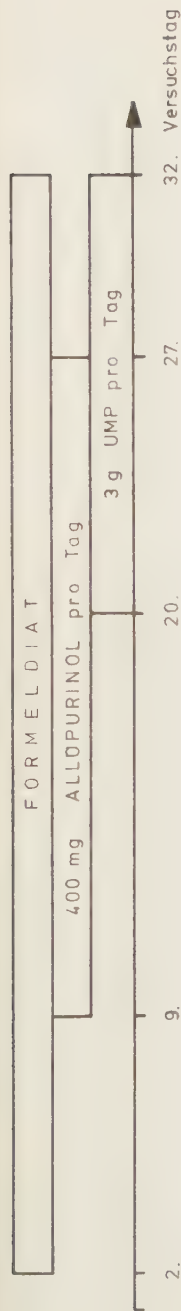


ABBILDUNG 7 : Orotsäureausscheidung im Urin (mg/die) mit Einzel- und Mittelwerten ($\bar{x} \pm 1-3$) der Gruppe A mit 5'-UMP - Belastung

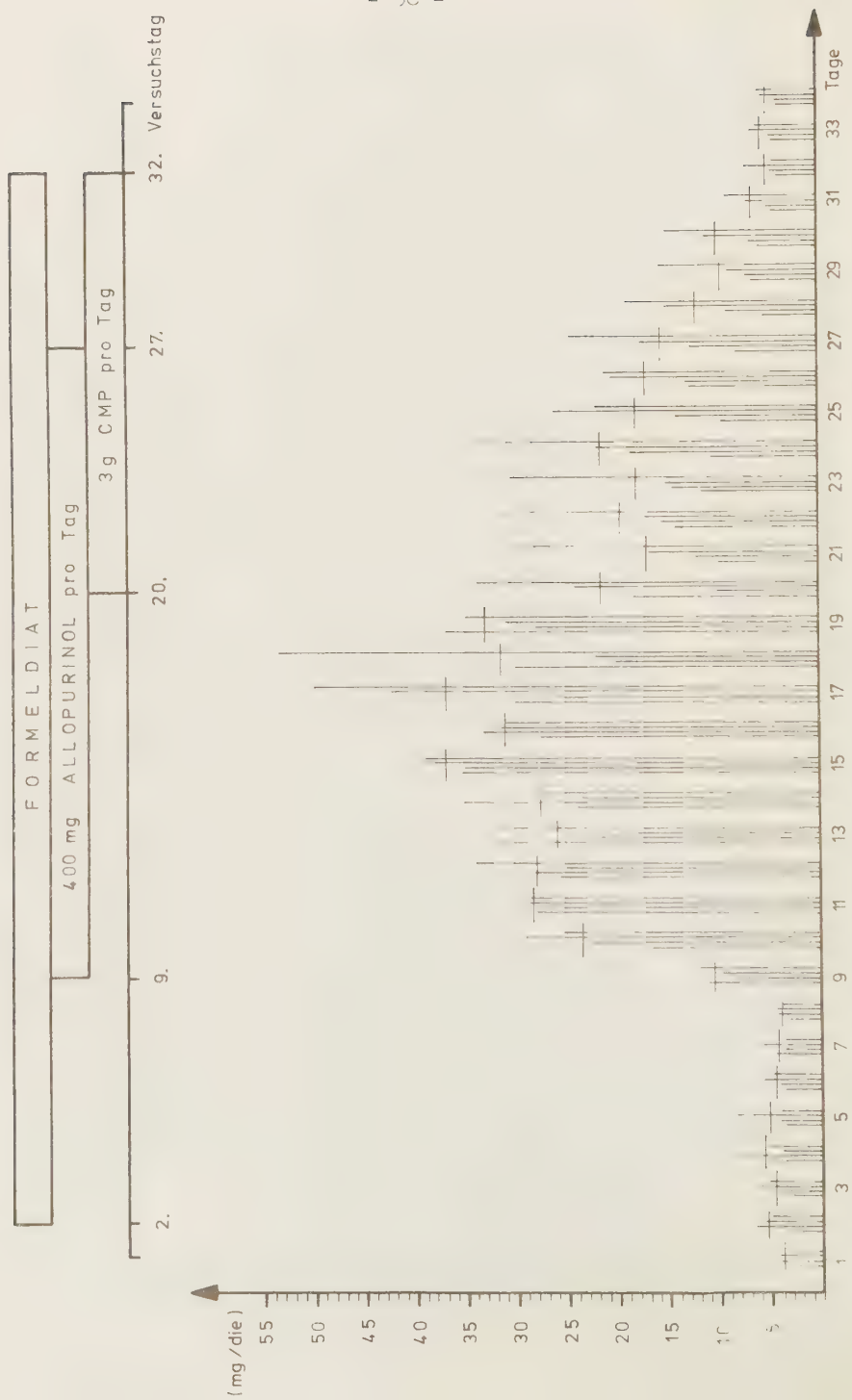


ABBILDUNG 8: Ortsureausscheidung im Urin (mg/die) mit Einzel- und Mittelwerten ($\bar{x}$ 4-7) der Gruppe B mit 5'-CMP - Belastung

5. Ergebnisse unter Formeldiät + 5'-UMP bzw. 5'-CMP

Nach Absetzen von Allopurinol verminderte sich die Orotsäureausscheidung wiederum auf Werte von $12,06 \pm 0,94$ mg/die (Gr. A), bzw. $12,03 \pm 3,02$ mg/die (Gr. B) am 1. Tag bis auf Werte von $4,62 \pm 0,59$ mg/die (Gr. A) und $5,03 \pm 0,69$ mg/die (Gr. B) am 5. Tag. Die beiden letztgenannten Werte sind fast wieder identisch mit den Ausgangswerten unter freigewählter Kost.

6. Ergebnisse unter freigewählter Kost, nach Absetzen von 5'-UMP bzw. 5'-CMP

Die Orotsäureausscheidungswerte der beiden letzten Versuchstage bei freigewählter Kost änderten sich gegenüber dem letzten Wert unter Formeldiät und 5'-UMP bzw. 5'-CMP nicht mehr merklich. Die Schlußwerte am letzten Versuchstag betrugen $4,35 \pm 0,90$ mg/die (Gr. A) bzw. $4,89 \pm 0,56$ mg/die (Gr. B).

Zusammenstellungen aller für die Ergebnisse benötigten Werte befinden sich in den Tabellen X a, X b, XI, XII. Die entsprechenden graphischen Darstellungen siehe Abbildung 6, 7, 8, 9, 10.

D. DISKUSSION

I. Vorbemerkungen

Bei der vorliegenden Arbeit sollte der Einfluß der Pyrimidinnucleotide 5'-UMP bzw. 5'-CMP auf die durch Allopurinol erhöhte Orotsäureausscheidung untersucht werden.

	Ver- suchs- tao	$\Sigma (x)$ Summe der Einzelwerte	$\bar{x}$ arithmetisches Mittel	s Standard- abweichung	S $\bar{x}$ mittlerer Fehler
Normalkost	1.	12,12	4,04	0,95	0,55
Formeldiät	2.	12,36	4,12	1,08	0,62
	3.	12,72	4,24	0,18	0,10
	4.	15,39	5,13	1,24	0,71
	5.	13,44	4,48	0,65	0,38
	6.	14,28	4,76	1,24	0,72
	7.	13,47	4,49	1,48	0,85
	8.	12,66	4,22	1,13	0,65
Formeldiät + 400 mg Allopurinol pro Tag	9.	28,59	9,53	3,08	1,78
	10.	63,39	21,13	4,27	2,47
	11.	90,72	30,24	14,45	8,35
	12.	86,16	28,72	21,02	12,13
	13.	79,02	26,34	11,89	6,86
	14.	82,80	27,60	5,85	3,38
	15.	109,77	36,59	13,89	8,02
	16.	120,72	40,24	4,34	2,51
	17.	137,10	45,70	7,40	4,27
	18.	127,44	42,48	4,01	2,31
Formeldiät + 400 mg Allopurinol pro Tag + 3 g UMP pro Tag	19.	117,15	39,05	13,95	8,05
	20.	56,07	18,69	8,53	4,93
	21.	54,00	18,00	3,29	1,90
	22.	59,04	19,68	5,04	2,91
	23.	53,49	17,83	3,52	2,03
	24.	62,49	20,83	6,93	4,04
	25.	60,48	20,16	2,62	1,51
	26.	49,89	16,63	6,28	3,63
	27.	48,00	16,00	4,53	2,61
	28.	36,18	12,06	1,63	0,94
Formeldiät + 3 g UMP pro Tag	29.	34,65	11,55	2,32	1,34
	30.	28,44	9,48	1,01	0,58
	31.	17,88	5,96	1,81	1,05
	32.	13,86	4,62	1,02	0,59
Normalkost	33.	13,38	4,46	1,70	0,98
	34.	13,05	4,35	1,55	0,90

TABELLE XI:

Berechnung von Mittelwert, Standardabweichung und mittlerem Fehler der Harnsäureausscheidung (mg/24h) der Gruppe A ($\bar{x}$ 1-3) mit 5'-UMP-Belastung.

	Ver- suchs- tag	$\Sigma (x)$ Summe der Einzelwerte	$\bar{x}$ arithmetisches Mittel	s Standard- abweichung	S $\bar{x}$ mittlerer Fehler
Normalkost	1.	15,18	3,80	1,26	0,63
Formeldiät	2.	21,04	5,26	1,71	0,86
	3.	17,96	4,49	1,34	0,67
	4.	22,04	5,51	1,62	0,81
	5.	20,00	5,00	2,28	1,14
	6.	17,92	4,48	1,01	0,51
	7.	17,16	4,29	1,10	0,55
	8.	15,00	3,75	0,59	0,30
Formeldiät + 400 mg Allopurinol pro Tag	9.	41,24	10,31	1,62	0,81
	10.	93,28	23,32	5,40	2,70
	11.	113,56	28,39	0,45	0,22
	12.	112,24	28,06	4,33	2,16
	13.	102,72	25,68	6,87	3,43
	14.	110,00	27,50	5,67	2,83
	15.	148,04	37,01	2,13	1,06
	16.	123,36	30,84	2,35	1,18
	17.	148,60	37,15	11,10	5,54
	18.	125,56	31,39	14,95	7,48
	19.	130,72	32,68	4,04	2,02
Formeldiät + 400 mg Allopurinol pro Tag + 3 g CMP pro Tag	20.	86,36	21,59	9,86	4,93
	21.	68,84	17,21	9,13	4,56
	22.	77,56	19,39	8,05	4,03
	23.	75,32	18,83	8,58	4,30
	24.	86,12	21,53	9,70	4,85
	25.	71,12	17,78	7,53	3,77
	26.	66,68	16,67	4,47	2,24
	27.	61,72	15,43	6,88	3,44
Formeldiät + 3 g CMP pro Tag	28.	48,12	12,03	6,04	3,02
	29.	37,72	9,43	4,15	2,07
	30.	38,84	9,71	4,18	2,09
	31.	25,00	6,25	2,07	1,04
	32.	20,12	5,03	1,18	0,69
Normalkost	33.	21,72	5,43	0,93	0,46
	34.	19,56	4,89	1,12	0,56

TABELLE XII: Berechnung von Mittelwert, Standardabweichung und mittlerem Fehler der Harnsäureausscheidung (mg/24h) der Gruppe B ($\bar{x}$ 4-7) mit 5'-CMP-Belastung.

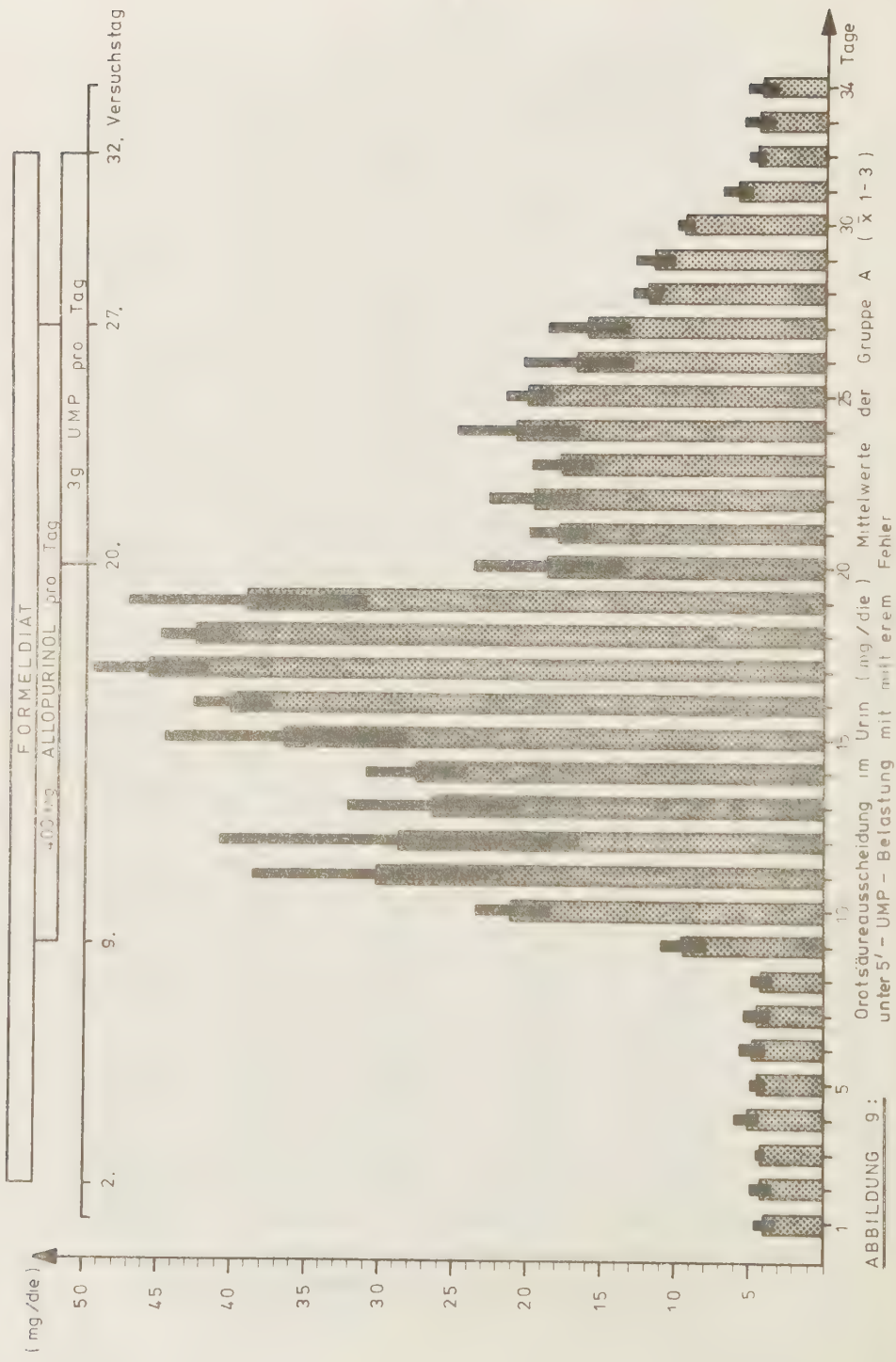


ABBILDUNG 9:

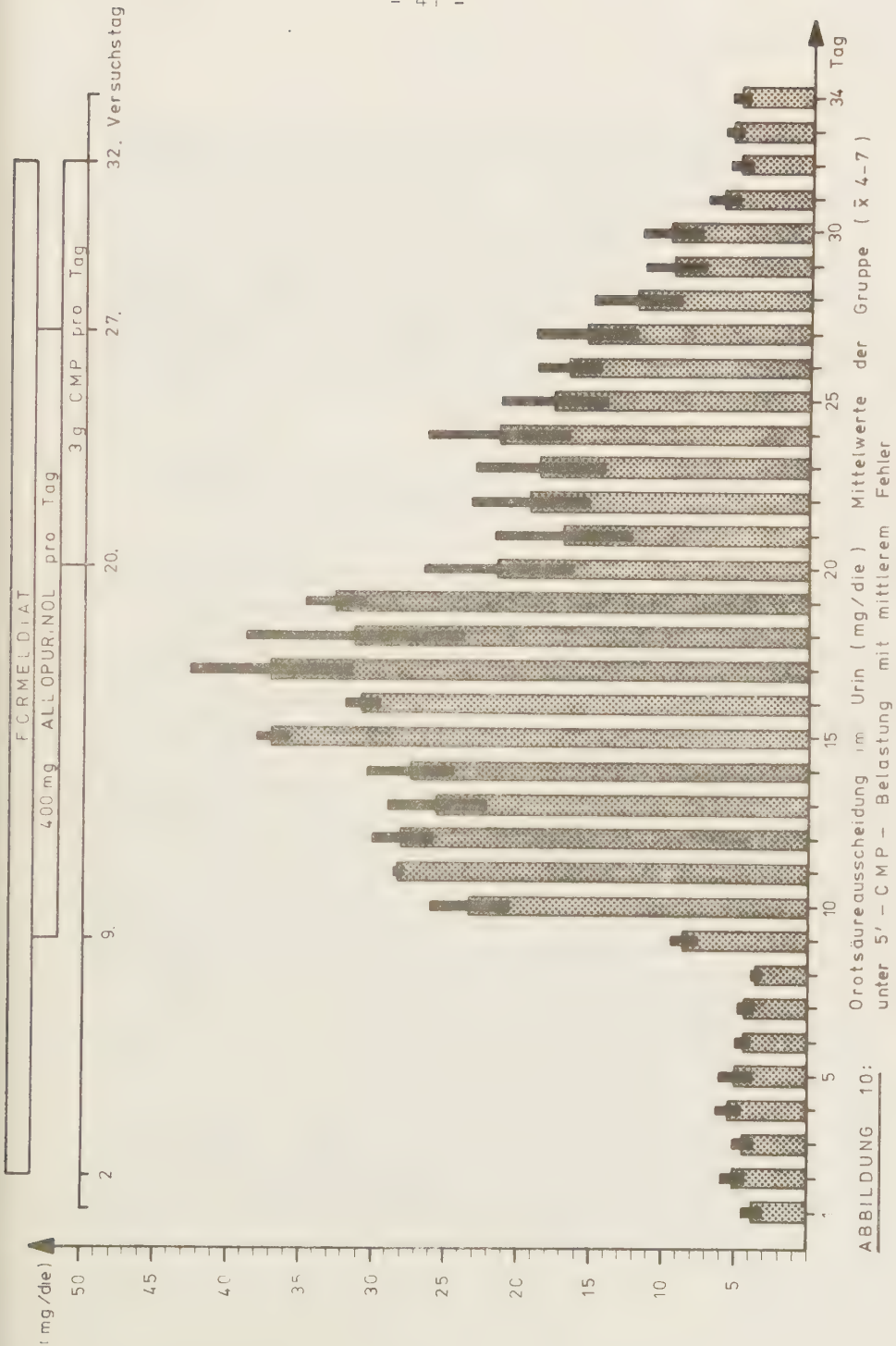


ABBILDUNG 10:

Der Versuch wurde unter den Bedingungen einer Formeldiät durchgeführt, um jegliche Zufuhr von Pyrimidinen bzw. Purinen mit der Nahrung auszuschließen, um somit einer Verfälschung der Ergebnisse vorzubeugen.

Zur Ausschaltung ana- bzw. kataboler Vorgänge, welche ebenfalls zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen können, wurde streng darauf geachtet, daß während des Versuches bei den V.P. keine größeren Gewichtsveränderungen auftraten (s. Tab. V).

II. Erläuterungen zur Bestimmungsmethode der Orotsäure

Die von uns verwandte Methode nach STAJNER, 1968 (33) wurde ursprünglich zur Orotsäurebestimmung im Blutserum entwickelt. Die Bestimmung im Serum konnte jedoch nur durchgeführt werden bei excessiv hoher Orotsäurekonzentration wie etwa bei der Orotic-Acidurie mit Werten von durchschnittlich 600 - 1500 mg/24 h im Urin (SMITH et al., 1972 (31)).

Daß mit den laufenden Techniken die Orotsäure im Plasma bei normalen Werten nicht zu bestimmen ist, zeigt auch SMITH et al, 1972 (31). KLIMMEK (1974 (18)) wies im Arbeitskreis von ZÖLLNER durch seine Untersuchungen nach, daß die STAJNER-Methode auch zur Orotsäurebestimmung im Urin anwendbar ist. Bei seinen Wiedergewinnungsversuchen belief sich die Rückgewinnungsrate auf 74 % - 86 %, was einer durchschnittlichen Verlustrate von 20 % entspricht.

Wie bereits erwähnt wird die Orotsäure durch eine reversible Reaktion zu Orotidin-5-Phosphat (OMF) umgewandelt. Ein Teil des OMF wird irreversibel dephosphoryliert zu dem metabolisch trägen Orotidin, welches im Urin ausgeschieden wird (FOX et al., 1969 (12)).

FOX et al., 1969 (12) fanden heraus, daß auf molarer Basis Orotidin ebenso reaktiv ist wie Orotsäure.

Somit stellt sich heraus, daß die mittels der STAJNER-Methode erhaltenen Werte nicht die ausgeschiedene Orotsäuremenge allein wiedergeben, sondern einer Addition von Orotsäure und Orotidin entsprechen. Der Einfachheit halber ist in der vorliegenden Arbeit jedoch stets nur von "Orotsäure" die Rede, obwohl die ausgeschiedene Menge an Orotidin größer ist als die der Orotsäure(FOX et al. 1969 (12)).

III. Werte der vorliegenden Arbeit im Vergleich mit anderen Autoren und Angaben zum jeweiligen Biochemismus

1. Orotsäureausscheidung unter freigewählter Kost

Autor		Orotidin (mg/24 h)	Orotsäure (mg/24 h)	Orotidin + Orotsäure (mg/24 h)
FOX et al. (1970) (12)		2-4	-	-
LOTZ et al. (1963) (22)		2,5	1,2 - 1,8	3,7 - 4,3
Eigene Ergebnisse	Gr. A	-	-	4,04
	Gr. B	-	-	3,80

TABELLE XIII: Vergleich von Werten der Orotidin- und Orotsäureausscheidung in mg/24 h bei freigewählter Kost

Aus der oben angeführten Tabelle ist ersichtlich, daß die von uns ermittelten Orotsäure-Normalwerte mit den Werten von LOTZ et al. (1963 (22)) gut übereinstimmen.

2. Orotsäureausscheidung unter Formeldiät

Autor		Diätform	Orotsäureausscheidung (mg/24 h)
ZÜLLNER, GRÖBNER (1971) (43)		Basisdiät Purin-N 10mg/1000cal	1 - 2,5
KLIMMEK (1974) (18)		Basisdiät Purin-N = 492 mg/die	4,03 - 5,11
Eigene Ergebnisse	Gr. A	Formeldiät	4,12 - 5,13
	Gr. B	Formeldiät	3,75 - 5,51

TABELLE XIV: Vergleich von Orotsäureausscheidungs-
werten in mg/24 h bei Formel- und
Basisdiät

Wie aus Tabelle XIV zu ersehen ist, liegen die Orotsäureausscheidungswerte bei ZÜLLNER, GRÖBNER unter Basisdiät etwa um die Hälfte niedriger als unsere Werte unter Formeldiät. Diese Tatsache dürfte jedoch auf unterschiedliche Meßmethoden und Meßinstrumente zurückzuführen sein.

KLIMMEK, der mit den gleichen Meßmethoden und -instrumenten arbeitete wie wir, erzielte fast die gleichen Orotsäureausscheidungsergebnisse, die auch unsere Versuchsserie erbrachte.

Die von uns unter Formeldiät ermittelten Ausscheidungswerte zeigen gegenüber den Werten unter freigewählter Kost keine signifikanten Unterschiede.

3. Orotsäureausscheidung unter Allopurinol

Autor		Diatform	Allopurinol (mg/die)	Orotsäure- ausscheidung (mg/die)
FOX et al. (1970) (12)		-	300	30 - 60
ZOLLNER, GRÜBNER (1971) (43)		Basisdiät	400	15 - 30
Eigene Ergebnisse	Gr. A	Formeldiät	400	26 - 46 *
	Gr. B	Formeldiät	400	26 - 37 *

TABELLE XV: Orotsäureausscheidung unter Allopurinol

* Durchschnitt der Werte vom 3. bis 11. Tag
unter Allopurinol

a) Zusätzlich zu den in der Tabelle XV angeführten Autoren geben KELLEY und WYNGAARDEN (1970 (17)) nach 400 mg Allopurinol/die unter purinfreier Kost einen eindrucksvollen Anstieg der Ausscheidung von Orotsäure und Orotidin an (Werte waren aus der Veröffentlichung nicht ersichtlich). Über ähnliche Beobachtungen berichten ebenfalls KELLEY und BEARDMORE (1970 (16)). Genauere Zahlenangaben konnten wir auch hier nicht finden.

Bei unserer Versuchsreihe pendelte sich nach einer Anlaufzeit von 2 Tagen die Orotsäureausscheidung unter Allopurinol auf ein kurzes steady-state vom 3. bis 6. Tag ein, wonach es zu einem weiteren erheblichen Anstieg der Orotsäureausscheidung kam.

Das gleiche steady-state Phänomen findet sich auch bei ZOLLNER, GRÜBNER (1971 (43)) für die Dauer von 2 Tagen, nämlich am 2. und 3. Tag unter Allopurinolverabreichung. Eine Erklärung für das Eintreten eines zweiten steady-states auf höherem Niveau steht bislang noch aus.

b) Normalerweise wird Allopurinol als Hemmer der Xanthin-Oxydase bei der Therapie der Gicht und Hyperurikämie verwendet (ZÖLLNER, 1960 (39); 1966 (40); 1970 (41); ZÖLLNER, GRÖBNER, 1970 (42); 1971 (43); ZOLLNER, SCHATTENKIRCHNER 1967 (44); MARTIN, 1974 (25)).

Allopurinol greift jedoch auch in die de novo Synthese von Uridin-5-Phosphat ein, wobei die OMP-Decarboxylase, welche die Umwandlung von Orotidin-5-Phosphat zu 5'-UMP katalysiert gehemmt wird (BEARDMORE, KELLEY, 1971 (3)).

FOX et al. (1970 (12)) fanden bei ihren Experimenten heraus, daß durch Allopurinol keine direkte Hemmung auf die OMP-Decarboxylase zu verifizieren war, sondern daß Allopurinol als kompetitiver Hemmstoff gegenüber Orotsäure in der Phosphoribosyltransferase-Reaktion auftritt und sich mit Phosphoribosylpyrophosphat (PRPP) zu einem Ribonucleotid verbindet. Dieser Allopurinol-Ribonucleotid-Komplex hemmt die OMP-Decarboxylase und führt zur Anhäufung von OMP. Das dephosphorylierte Produkt Orotidin erscheint im Urin.



Daraus geht hervor, daß, wie bereits erwähnt, mehr Orotidin als Orotsäure ausgeschieden wird.

Ein ähnlicher Block in der Umwandlung der Orotsäure zu Uridin-5-Phosphat besteht bei der Orotic-Acidurie, einer

angeborenen Krankheit mit excessiv hoher Orotidin und Orotsäureausscheidung (CRAIG, 1968 (8); FOX et al., 1969 (11); RUNDLES, BREWER, 1958 (27); SMITH et al., 1972 (31)).

4. Orotsäureausscheidung bei zusätzlicher Gabe von 5'-UMP bzw. 5'-CMP

Autor		Diat-form	Allopurinol (mg/die)	zusätzl. Gabe von	Orotsäure-ausscheidung (mg/die)
ZOLLNER, GROBNER (1971) (43)		Basis-diat	400	RNA: 4g/die	3,5-12,0
Eigene Ergebnisse	Gr. A	Formel-diat	400	UMP: 3g/die	16,06-20,83
	Gr. B	Formel-diat	400	CMP: 3g/die	15,43-21,59

TABELLE XVI: Orotsäureausscheidung in mg/die unter Allopurinol und RNA bzw. 5'-UMP, 5'-CMP

Ein direkter Vergleich mit Werten unter Allopurinol und 5'-UMP bzw. 5'-CMP war nicht möglich, da unsere Versuchsanordnung neu ist und dementsprechende Literaturangaben nicht zu finden waren.

a) Unter RNA tritt ebenso wie unter 5'-UMP bzw. 5'-CMP ein signifikanter Abfall der Orotsäureausscheidung gegenüber der unter Allopurinol erhöhten Ausscheidung der Orotsäure auf.

Es zeigt sich also, daß die Gabe der beiden einzelnen Pyrimidinmononucleotide den gleichen Effekt auf die Orotsäureausscheidung aufweist wie die Gabe von RNA.

b) Wie bereits in der Einleitung erwähnt, möchten wir für die Verminderung der Orotsäureausscheidung folgende Hypthesen diskutieren:

- α) 5'-UMP bzw. 5'-CMP könnte ebenso wie RNA eine Bildung des Allopurinol-Ribonucleotides und damit die OMP-Decarboxylasehemmung verhindern.

Die Richtigkeit dieser Angabe erscheint jedoch sehr zweifelhaft (ZÖLLNER, GRÖBNER, 1971 (43)).

- β) Durch Zufuhr von Pyrimidinderivaten wird die Pyrimidinbiosynthese bereits auf einer Vorstufe zur Orotsäure mittels feedback-inhibition gehemmt (ZÖLLNER, GRÖBNER, 1971 (43)). Dadurch verringert sich die Rate der neu-gebildeten Orotsäure und somit auch deren Ausscheidung. Offensichtlich ist es dabei ohne Bedeutung, ob man ein Pyrimidinmononucleotid oder RNA, die ja auch zu Purin- und Pyrimidinmononucleotiden abgebaut wird, verabreicht.

Man geht bei der Endprodukthemmung (feedback-inhibition) davon aus, daß ein Regulationsmechanismus existiert, durch welchen bei ausreichender Menge an Endprodukten die Synthese verlangsamt oder eingestellt wird. Bei einem Absinken der Endproduktkonzentration wird dagegen die Synthese verstärkt (SMITH et al., 1972 (31)).

Für unseren Versuch würde das bedeuten, daß nach Gabe von 5'-UMP bzw. 5'-CMP die Autoregulation in Kraft tritt, d. h. Enzyme zur Synthese der Orotsäure und somit zur Pyrimidinsynthese gehemmt werden.

Für diese Annahme sprechen auch die klinischen Erfahrungen bei der angeborenen Orotic-Acidurie. Dabei zeigen FOX et al. (1969 (11)), SMITH et al. (1972 (31)) und BECROFT et al. (1969 (4)), daß der bereits erwähnte metabolische Block durch Gabe von Uridin mittels Endprodukthemmung umgangen werden kann und somit ein starker Abfall der Orotsäureausscheidung mit Besserung der damit in Zusammenhang stehenden Krankheitsbilder eintritt.

5. Orotsäureausscheidung unter 5'-UMP bzw.
5'-CMP ohne Allopurinol

Autor		Diät- form	zusätzliche Gabe von	Orotsäure- ausscheidung (mg/die)
ZÖLLNER, GRÜBNER (1971) (43)		Basis- diät	RNA: 4g/die	0,5-3,5
Eigene Ergebnisse	Gr.A	Formel- diät	UMP: 3g/die	4,62-12,06
	Gr.B	Formel- diät	CMP: 3g/die	5,03-12,03

TABELLE XVII: Orotsäureausscheidung in mg/die unter
RNA bzw. 5'-UMP, 5'-CMP

Unter 5'-UMP bzw. 5'-CMP tritt nach Absetzen von Allopurinol sofort wieder ein starker Abfall der Orotsäureausscheidung ein. Während bei Verabreichung von RNA für die Dauer von 6 Tagen ein Absinken der Ausscheidungswerte von Orotsäure bis weit unter den Ausgangswert zu verzeichnen ist, tritt unter 5'-UMP bzw. 5'-CMP bis zum 5. Tag lediglich ein Abfall bis in Höhe der Normalwerte auf.

Da wegen der Länge des Versuches und seiner Belastung für die V.P. unter Formeldiät-Bedingungen die Gabe von 5'-UMP bzw. 5'-CMP nach 5 Tagen abgesetzt werden mußte, läßt sich nicht mit ausreichender Sicherheit sagen, ob die Ausscheidungswerte nach längerer alleiniger 5'-UMP- bzw. 5'-CMP-Verabreichung ebenfalls unter die Normalwerte abgesunken wären, was jedoch aufgrund der feed-back-inhibition stark vermutet werden darf.

IV. Standardabweichung und mittlerer Fehler
sowie Paarvergleich und Vergleich un-
abhängiger Meßreihen

1. Die Berechnung der Standardabweichung erfolgte nach folgender Formel:

$$s = \sqrt{\frac{S_x}{n-1}} \quad \text{wobei} \quad S_x = \sum (x - \bar{x})^2$$

2. Die Berechnung des mittleren Fehlers erfolgte nach folgender Formel:

$$s\bar{x} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Aus Abbildung 9 und 10 ist gut ersichtlich, daß unter Allopurinol der mittlere Fehler besonders hoch ist, was jedoch auf die geringe Anzahl der V.P. zurückzuführen ist, da bekanntlich mit wachsender Anzahl von V.P. n immer größer und somit $S \bar{x}$ immer kleiner wird. Dies zeigt sich auch deutlich im Vergleich der beiden Gruppen untereinander, wobei der mittlere Fehler der Gruppe A mit 3 V.P. durchschnittlich größer ist als der der Gruppe B mit 4 V.P.

Bei der geringen Anzahl von V.P. mag es fernerhin von Interesse sein, daß sich in jeder Gruppe eine V.P. mit zum Teil erheblich höheren Orotsäureausscheidungswerten im Vergleich zu den anderen V.P. befand, was, da diese beiden V.P. Geschwister waren, an eine familiäre Veranlagung denken läßt.

3. Paarvergleich

Zur Nachprüfung, ob sich die Werte der Orotsäureausscheidung im Urin bei den verschiedenen Versuchsschnitten signifikant von Null unterscheiden, verwendet man den Paarvergleich. Der dazu benötigte Prüfquotient t berechnet sich auf folgende Weise:

Man errechnet unter Berücksichtigung des Vorzeichens die einzelnen Paardifferenzen (im vorliegenden Fall x_1 bis x_7). Hieraus wird die durchschnittliche Differenz $\bar{x}$ und sodann wie unter IV. 1) und IV. 2) $s_{\bar{x}}$ ermittelt. Es gilt nun:

$$t = \frac{\bar{x}}{s_{\bar{x}}}$$

In den Tafeln der Student-Verteilung (GEIGY, 1962 (13)), die für $v = n - 1 \leq 200$ (n = Anzahl der Versuchspersonen) gilt, läßt sich ablesen, welcher t -Wert von dem errechneten Prüfquotienten eben überschritten wird, und die Irrtumswahrscheinlichkeit für diesen Tabellenwert angeben.

Der Unterschied zwischen zwei Meßreihen ist signifikant, wenn sich dabei Werte von $p < 0,05 \hat{=} 5\%$ ergeben, d.h. die Nullhypothese mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5 % abzulehnen ist.

- a) Der Anstieg der Orotsäureausscheidungswerte von der Periode unter Formeldiätverabreichung (Versuchstag 8) auf die Werte der Periode unter Formeldiät + Allopurinol ist signifikant, da gilt: (Versuchstag 19)

$$\begin{aligned}\bar{x} &= 31,7457 \\ s_{\bar{x}} &= 3,3299 \\ t &= 9,5335\end{aligned}$$

für $v = n - 1 = 6$ ergibt sich: $0,0005 > p > 0$

- b) Der Abfall der Orotsäureausscheidungswerte von der Periode unter Formeldiät + Allopurinol (Versuchstag 19) auf die Werte der Periode unter Formeldiät + Allopurinol + 5'-UMP bzw. 5'-CMP (Versuchstag 27) ist signifikant, da gilt:

$$\begin{aligned}\bar{x} &= 19,9986 \\ s_{\bar{x}} &= 3,2885 \\ t &= 6,0864\end{aligned}$$

für $v = n-1 = 6$ ergibt sich: $0,0005 > p > 0$

Für diesen Paarvergleich wurden die V.P. der Gruppe A unter 5'-UMP-Belastung und die V.P. der Gruppe B unter 5'-CMP-Belastung zusammengefaßt, da ein Vergleich unabhängiger Meßreihen (s. IV. 4) ergab, daß zwischen 5'-UMP- und 5'-CMP-Belastung kein signifikanter Unterschied besteht ($0,45 > p > 0,40$).

- c) Der Abfall der Orotsäureausscheidungswerte von der Periode unter Formeldiät + Allopurinol + 5'-UMP bzw. 5'-CMP (Versuchstag 27) auf die Werte der Periode unter Formeldiät + 5'-UMP bzw. 5'-CMP (Versuchstag 32) ist signifikant, da gilt:

$$\begin{aligned}\bar{x} &= 10,8429 \\ s_{\bar{x}} &= 1,9820 \\ t &= 5,4692\end{aligned}$$

für $v = n-1 = 6$ ergibt sich: $0,0025 > p > 0,0005$

Hier wurden ebenfalls die V.P. beider Gruppen zusammengefaßt.

4. Vergleich der Mittelwerte unabhängiger Meßreihen

Die Richtigkeit der Nullhypothese, daß der Unterschied zwischen zwei Untersuchungsreihen rein zufällig ist, untersucht man wiederum mit Hilfe des Prüfquotienten t .

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{sd} \quad \text{hierbei gilt:}$$

$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$ = Differenz der Mittelwerte beider Meßreihen.

$$sd = \sqrt{\frac{(s_1 + s_2) \cdot (n_1 + n_2)}{(n_1 + n_2 - 2) \cdot n_1 \cdot n_2}} \quad \text{hierbei gilt:}$$

$$S = S(x^2) - \frac{(S(x))^2}{n}$$

Für $v = n_1 + n_2 - 2 \hat{=} 200$ gilt wiederum die Student-Verteilung.

Bei unserer Versuchsreihe wurde dieser Vergleich der Mittelwerte unabhängiger Meßreihen für den 27. Versuchstag zwischen Gruppe A ($n = 3$) mit 5'-UMP-Belastung und Gruppe B ($n = 4$) mit 5'-CMP-Belastung durchgeführt. Es ergab sich ein t -Wert von 0,1394.

Für $v = n_1 + n_2 - 2 = 5$ gilt: $0,45 > p > 0,40$

Demnach besteht im vorliegenden Fall kein signifikanter Unterschied der Orotsäureausscheidungswerte zwischen der Belastung mit 5'-UMP und 5'-CMP.

Die Berechnungen erfolgten nach FRANKE (1969 (12a)).

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Unter den Bedingungen einer weitgehend pyrimidin-freien Formeldiät zeigen sich keine größeren Veränderungen der Orotsäureausscheidung gegenüber freigewählter Kost.
2. Unter Formeldiät und gleichzeitiger Gabe von 400 mg/die Allopurinol steigt die Orotsäureausscheidung sofort an und erreicht am 9. Tag Werte von 45,7 mg/die (Gr. A) bzw. 37,15 mg/die (Gr. B); diese Werte entsprechen 1131 % (Gr. A) bzw. 977 % (Gr. B) des Ausgangswertes, also etwa dem Zehnfachen.
3. Unter Belastung mit 5'-UMP bzw. 5'-CMP (3g/V.P./die) und Allopurinol fällt die Orotsäureausscheidung auf Werte von 16,0 mg/die (Gr. A) bzw. 15,43 mg/die (Gr. B) ab, welche damit nur noch 35 % (Gr. A) bzw. 41 % (Gr. B) des Maximalwertes unter Allopurinol betragen, also etwa einem Drittel.
4. Zwischen der Gruppe A mit 5'-UMP-Belastung und der Gruppe B mit 5'-CMP-Belastung läßt sich kein signifikanter Unterschied in der Ausscheidungs-menge von Orotsäure feststellen ($0,45 > p > 0,40$).
5. Nach Absetzen von Allopurinol sinkt die Orotsäureausscheidungsrate unter Belastung mit 5'-UMP bzw. 5'-CMP auf Werte von 4,62 mg/die (Gr. A) bzw. 5,03 mg/die (Gr. B), was 22 % (Gr. A) bzw. 23 % (Gr. B) der Maximalwerte unter 5'-UMP bzw. 5'-CMP + Allopurinol entspricht, ab.

6. Das beobachtete Verhalten der Orotsäureausscheidung entspricht den Ergebnissen von FOX et al. (1970 (12)) unter Verabreichung von Allopurinol bzw. ZÖLLNER, GRÖBNER (1971 (43)) unter gleichzeitiger Gabe von Pyrimidinen in Form von RNA. Damit ist die Rolle der Pyrimidinnucleotide 5'-UMP bzw. 5'-CMP als Hemmer der durch Allopurinol bedingten Orotsäuremehrproduktion nachgewiesen.
7. In Übereinstimmung mit bisherigen Untersuchungen wird als Erklärung diskutiert, daß durch Zufuhr von Pyrimidinderivaten die Pyrimidinbiosynthese bereits auf einer Vorstufe zur Orotsäure mittels feedback-inhibition gehemmt, und so die Neubildung von Orotsäure verringert wird.

F. LITERATUR

1. ADACHI, T. A colorimetric Determination of
TANIMURA, A. Orotic Acid.
ASAHIWA, M.: J. Vitam., 9, 217 (1963)

2. ARVIDSON, H. Orotic acid as a Precursor of
ELIASSON, N. A. Pyrimidine in the rat.
HAMMARSTEN, E. J. biol. Chem., 179, 169 (1949)
REICHARD, P.
UBISCH, H. v.:

3. BEARDMORE, D. Mechanism of allopurinol-mediated
KELLEY, W.: inhibition of pyrimidine biosynthesis.
J. Lab. Clin. Med., 78, 696 (1971)

4. BECROFT, D. Hereditary orotic aciduria: Long-
PHILLIPS, L. term therapy with uridine and a
SIMMONDS, M.: trial of uracil.
J. Pediat., 75, 885 (1969)

5. BERG, D.: Inaugural-Dissertation: Entwicklung
einer Methode zum Dünnschicht-
chromatographischen Nachweis von
Orotsäure in verschiedenen Milchen.
Heidelberg (1970)

6. BEYER, K. H.: Orotsäure, ihre Chemie und
physiologische Bedeutung.
Pharm. Ztg, 105, Nr. 31, 904 (1960)

7. COMBS, G. F. Unidentified Growth Factors required
ARSCOTT, G. H. by Chicks and Poults. III. Chick
JONES, H. L.: Studies Involving Practical Type
Rations.
Poultry Science, 33, 71 (1954)

8. CRAIG, J. W.: Present knowledge of nutrition in
inborn errors of metabolism.
Nutrition Reviews, 26, 161 (1968)

9. DELBARRE, F. Traitement de la Goutte par l'Acide
AUSCHER, C.: Uracil-6-Carboxylique et ses Dérivées.
La Presse Medicale, 71, No. 37,
1765 (1963)
10. DU BOIS, D. Nomogramm zur Bestimmung der
DU BOIS, E. F.: Körperoberfläche.
Arch. intern. Med., 17, 863 (1916)
11. FOX, R. M. Orotic Aciduria, Differing Enzyme
O'SULLIVAN, W.J. Patterns.
FIRKIN, B. G.: Amer. Journal of Medicine, 47,
332 (1969)
12. FOX, R. M. Orotidinuria induced by Allopurinol.
ROYSE-SMITH, D. Science, 168, 861 (1970)
O'SULLIVAN, W.J.:
- *
13. GEIGY, J. R.: Documenta Geigy:
Wissenschaftliche Tabellen,
Basel, Schweiz (1962)
14. HALLANGER, L.E.: Orotic Acid in Milk.
J. Biol. Chem., 202, 83 (1953)
15. JOHKE, T.: Acid-Soluble Nucleotides of Colostrum,
Milk, and Mammary Gland.
J. of Biochem., Vol. 54, No. 5, 388
(1963)
16. KELLEY, W. N. Allopurinol: Alteration of pyrimidine
BEARDMORE, T. D.: metabolism in man.
Science, 169, 388 (1970)
17. KELLEY, W. N. Effect of Dietary Purine Restriction,
WYNGAARDEN, J.B.: Allopurinol, and Oxipurinol on Urinary
Excretion of Ultraviolet-Absorbing
Compounds.
Clinical Chemistry, 16, No. 8, 707
(1970)
- * 12a. FRANKE, H.: Manuskript und Vortrag.
Thieme-Verlag, Stuttgart (1969)

18. KLIMMEK, R.: Inaugural-Dissertation: Wirkung von Allopurinol auf die Orotsäure und Oxypurinausscheidung beim Menschen in Abhängigkeit von peroral zugeführter Ribonucleinsäure. München (1974)
19. KOBATA, A.
ZIRO, S.
KIDO, M.: The Acid-Soluble Nucleotides of Milk. I. Quantitative and Qualitative Differences of Nucleotides Constituents in Human and Cow's Milk. J. of Biochem., Vol. 51, No. 4, 277 (1961)
20. LAST, G.: Probleme der Altersbehandlung. Zeitschrift für Therapie, Sonderdruck aus Heft 8, 473-485 (1970)
21. LIEBERMAN, I.
KORNBERG, A.
SIMMS, E. S.: Enzymatic Synthesis of Pyrimidine Nucleotides, Orotidine-5'-phosphate and Uridine-5'-phosphate. J. biol. Chem., 215, 403 (1955)
22. LOTZ, M.
FALLON, H. J.
SMITH, L.H. Jr.: Excretion of orotic acid and orotidine in heterozygotes of congenital orotic aciduria. Nature, 197, 194 (1963)
23. MAHLER, H. R.
CORDES, E. H.: Metabolism of the Nucleic Acids in Biological Chemistry Harper & Row, New York, 725 (1969)
24. MAKINO, K.
KINOSHITA, T.
SATCH, K.
SASAKI, T.: Orotic acid as one of the growth-factors of mice. Nature, 172, 914 (1953)
25. MARTIN, U.: Inaugural-Dissertation: Einfluß der Pyrimidinnucleotide 5'-UMP und 5'-CMP auf die durch Allopurinol herabgesetzte Harnsäureausscheidung unter den Bedingungen einer Formeldiät. München (1974), im Druck

26. MATTHIES, H.: The effects of precursors of Ribonucleic acid on memory.
VII Intern. Congress, 1970 Prag,
CINP-Abstracts Vol. II, 292
27. RUNDLES, R. W. Hematologic Responses on Pernicious
BREWER, Sp. Jr.: Anemia to Orotic Acid.
Blood, 13, No. 2, 99 (1958)
28. SCHWIETZER, C.: Orotsäure als Arzneimittel
Therapie der Gegenwart, 102, 65 (1963)
29. SCHWIETZER, C.: Physiologische Eigenschaften der
Orotsäure.
Biochem. Zeit., 328, 291 (1956)
30. SCHWIETZER, C.: Zur Biochemie und Pharmakologie von
Orotsäure und Purinkörpern.
Dtsch. Med. Wochenschrift, 49,
2082 (1957)
31. SMITH, L. H. Jr. Hereditary orotic aciduria in
HUGULEY, C.M.Jr. Metabolic basis of inherited disease
BAIN, J. A.: edited by Stanbury, Wyngaarden,
Fredrichson.
Chapter 42, 1003
Mc Graw Hill, New York (1972)
32. SOLMS, J. Vorkommen von Nucleotiden und ver-
KIEFFER, F. wandten Verbindungen in Milch und
EGLI, R. H.: Milchprodukten.
Zeitschrift für Lebensmittel-Unter-
suchung und -Forschung, 125, No. 5,
346-350 (1964)
33. STAJNER, A. The determination of Orotic Acid in
SUVA, J. the Blood Serum by Means of the
MUSIL, F.: Spectrophotometric Method.
Experientia, 24, 116 (1968)

34. SZÉLENYI, I. Wirkung von Magnesium-Orotat-
NEMESANSZKY, E. Glycinat auf die experimentelle
LASZLO, G. Ammoniak-Intoxikation.
DESI, I.: Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)
 21, 787 (1971)
35. SZÉLENYI, I. Experimentelle Leberschäden und ihre
NEMESANSZKY, E. Beeinflussung durch anorganische und
et al.: organische Magnesium-Salze.
 Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)
 21, 772 (1971)
36. WHEELER, H. L. Researches on Pyrimidines: Synthesis
JOHNSON, T. B. of Uracil-5-Carboxylic Acid.
JOHNS, C. O.: J. Amer. Chem. Soc. 27 392 (1907)
37. WYNGAARDEN, J.B. Gout in Metabolic basis of inherited
KELLEY, W. N.: disease edited by Stanbury,
 Wyngaarden, Fredrichson.
 Chapter 39, 889
 Mc Graw-Hill, New York (1972)
38. ZÖLLNER, N.: Tannhausers Lehrbuch des Stoffwechsels
 und der Stoffwechselkrankheiten.
 Thieme-Verlag, Stuttgart (1957)
39. ZÖLLNER, N.: Moderne Gichtprobleme,
 Ätiologie, Pathogenese, Klinik.
 Ergebn. inn. Med. und Kinderheilk.
 (Springer-Verlag, Berlin) 14. Band,
 321 (1960)
40. ZÖLLNER, N.: Die Behandlungen der Gicht und der
 Uratnephrolithiasis mit Allopurinol.
 Verh. Dtsch. Ges. inn. Med., 72,
 782 (1966)
41. ZÖLLNER, N.: Hemmung der endogenen Harnsäure-
 synthese mit Allopurinol bei Gicht
 und Uratdiathese.
 Münchner Med. Wschr., 112,
 2263 (1970)

42. ZÖLLNER, N. Der unterschiedliche Einfluß von
GROBNER, W. Allopurinol auf die endogene und
 exogene Uratquote.
 Europ. J. clin. Pharmacol., 2,
 56 (1970)
43. ZÖLLNER, N. Influence of Oral Ribonucleic Acid
GROBNER, W.: on Orotaciduria Due to Allopurinol
 Administration.
 Z. ges. exp. Med., 156, 317 (1971)
44. ZÖLLNER, N. Allopurinol in der Behandlung der
SCHATTEN- Gicht und der Harnsäurenephrolithiasis.
KIRCHNER, M.: Dtsch. med. Wschr., 92, 654 (1967)

Mein Dank gilt besonders Herrn Professor Dr. N. Zöllner, der mir die Möglichkeit gab, meine Arbeit an seiner Klinik durchzuführen und mir freundlicherweise das Thema der Arbeit überließ.

Sehr bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. A. Griebisch, der mir mit seinem Rat jederzeit zur Seite stand.

L E B E N S L A U F

Am 4. Januar 1947 wurde ich als Sohn des Kaufmannes Emil Brehm und seiner Ehefrau Betty Brehm, geb. Iglhaut, in München geboren.

1952 zogen meine Eltern nach Neunkirchen/Saar, wo ich von 1953 bis 1957 die Volksschule besuchte. Nach dem Tod meines Vaters kehrten wir wieder nach München zurück. Hier besuchte ich, nachdem ich noch ein Jahr zur Volksschule gegangen war, das humanistische Wilhelmsgymnasium, an welchem ich 1968 die Reifeprüfung ablegte.

Nachdem ich 1 Semester Biologie studiert hatte, erhielt ich 1969 die Zulassung zum Studium der Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München.

Hier werde ich im Frühjahr 1975 das medizinische Staatsexamen ablegen.

Mit der vorliegenden Dissertation war ich vom Herbst 1972 bis Winter 1974 beschäftigt.

